

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

DISSERTAÇÃO | ARTIGO DE REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

# Psiconeuroimunologia da ansiedade

Maria Constança Mendes de Vasconcelos  
Carvalho Guimarães



**2018**



**Título:** Psiconeuroimunologia da Ansiedade

---

**Estudante:**

Nome Completo: Maria Constança Mendes de Vasconcelos Carvalho Guimarães

Endereço de correio eletrónico: constancacguimaraes@gmail.com

Mestrado Integrado em Medicina

Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto

---

**Orientador:**

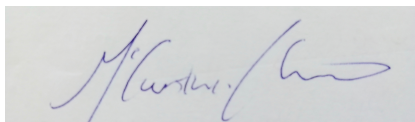
Nome Completo: Maria del Carmen Palmira Coya Garcia

Grau Académico: Professora afiliada do Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar

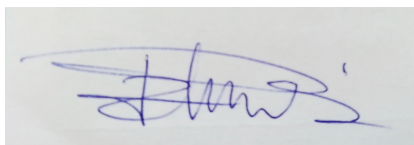
Título Profissional: Assistente hospitalar de psiquiatria

**Maior de 2018**

Assinatura Estudante

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'M. Costa' followed by a stylized flourish.

Assinatura do Orientador

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'H. Silva' followed by a stylized flourish.

31 de Maio 2018

## **Agradecimentos**

Queria agradecer à minha orientadora e Professora, Dra. Palmira Coya, por toda a sua disponibilidade, interesse e apoio, indispensáveis para a elaboração do presente trabalho.

Queria agradecer também à minha família e amigos, particularmente à minha irmã Beatriz, a quem dedico o meu trabalho, pelo companheirismo e cumplicidade com que tem acompanhado todo o meu percurso de vida.



## Resumo

Nos dias de hoje, os transtornos de ansiedade correspondem a uma das patologias mais frequentes e incapacitantes do foro psiquiátrico a nível mundial. De facto, evidenciou-se que até 33,7% da população mundial é afetada por um transtorno de ansiedade em qualquer momento das suas vidas. Para além da elevada prevalência, estes transtornos abarcam elevados custos socioeconómicos, seja pelo uso frequente dos cuidados de saúde primários, ou pelo seu incorreto diagnóstico e tratamento.

A evidência crescente de que os distúrbios de ansiedade estavam relacionados com uma redução da esperança média de vida e com um maior risco de doenças crónicas como doença cardíaca, acidente vascular cerebral, diabetes mellitus, asma, determinados tipos de cancro, artrite reumatoide e osteoporose, assim como a observação prévia de semelhante fenómeno no caso da depressão major, levou a considerar para os distúrbios da ansiedade, mecanismos etiológicos envolvendo vários sistemas, destacando-se o papel da psiconeuroimunologia.

A psiconeuroimunologia corresponde ao campo científico que estuda a relação bidirecional entre o sistema nervoso e o sistema imunitário, assim como as implicações destas relações na saúde física e mental do homem. Atualmente, é incontestável a noção de que o sistema nervoso central influencia o sistema imunitário, essencialmente via sistema nervoso autónomo e eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e que o sistema imunitário, por sua vez, via citocinas, quimiocinas e elementos celulares, ajuda a moldar o desenvolvimento e função do sistema nervoso central. Dentro dos vários estudos realizados na área da psiconeuroimunologia, foi possível comprovar que a exposição a antígenos era capaz de alterar a atividade noradrenérgica cerebral e evidenciar que não só certas citocinas atuavam indiretamente no cérebro, como também diretamente, ao atravessarem a barreira hematoencefálica. Ainda que durante muito tempo se tenha considerado que o sistema nervoso central era um local desprovido de células linfoides, sabe-se atualmente que células do sistema imunitário circulam dentro e fora do cérebro, e que apresentam um papel essencial não só no seu desenvolvimento normal, como também no desenvolvimento de inúmeros distúrbios neuropsiquiátricos, dos quais se destacam os transtornos da ansiedade.

A possibilidade de uma terapêutica eficaz e direcionada para os distúrbios da ansiedade depende da compreensão dos mecanismos que lhes estão subjacentes, pelo que ainda que tenham havido já vários esforços no sentido de estudar as relações que constituem o campo da psiconeuroimunologia, muitos dos mecanismos que a constituem permanecem mal compreendidos.

A presente dissertação do tipo revisão bibliográfica tem como principal objetivo rever os diferentes achados no campo da psiconeuroimunologia, desde os seus primórdios até à atualidade, com especial enfoque no papel do stress, das citocinas e da microglia no desenvolvimento dos transtornos de ansiedade.

Este trabalho, desenvolvido entre Novembro de 2017 e Maio de 2018, foi elaborado através do levantamento e análise crítica de artigos científicos, ensaios clínicos, estudos, registos e meta-análises, maioritariamente publicados nos últimos 15 anos, utilizando como palavras-chave: "psychoneuroimmunology", "anxiety disorders", "immune-brain connectivity" e "stress and immunity".

**Palavras-chave:** psychoneuroimmunology, stress, cytokines, inflammation, anxiety disorders

## **Abstract**

Nowadays, anxiety disorders correspond to one of the most frequent and incapacitating pathologies in the psychiatric world. In fact, it has been shown that up to 33.7% of the world's population is affected by an anxiety disorder at any time in their life. In addition to this high prevalence, these disorders include high socioeconomic costs, either through frequent use of primary health care, or through incorrect diagnosis and treatment.

The growing evidence that anxiety disorders were related to a reduction in the average life expectancy and a higher risk of chronic diseases such as heart disease, stroke, diabetes mellitus, asthma, certain cancers, rheumatoid arthritis and osteoporosis, as well as the previous observation of such phenomenon in the case of major depression, led to the necessity to consider etiological mechanisms for anxiety disorders involving several systems, emphasizing the role of psychoneuroimmunology.

Psychoneuroimmunology corresponds to the field of science that studies the bidirectional relationship between the nervous and the immune and endocrinological systems, as well as the implications of these relations on the human physical and mental health. At present, there is virtually no doubt that the central nervous system controls the immune system, essentially via the autonomic nervous system and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, and that the immune system, in turn, via cytokines, chemokines and cellular elements, helps to shape the development and function of the central nervous system. Within the several studies in the area of psychoneuroimmunology, it was possible to prove that the antigen exposure was capable of altering the noradrenergic activity of the brain and showed that not only certain cytokines act indirectly in the brain, but also directly, when they cross the blood-brain barrier. Although the central nervous system was long considered to be a site devoid of lymphoid cells, it is now known that cells of the immune system circulate inside and outside the brain, playing an essential role not only in the normal development of the central nervous system, but also as in the development of numerous neuropsychiatric disorders, of which anxiety disorders are prominent. The possibility of an effective and targeted therapy for anxiety disorders depends on the understanding of the mechanisms underlying them, so that although there have already been several efforts to study the relationships that constitute the field of psychoneuroimmunology, many of the mechanisms that remain poorly understood. The main purpose of this dissertation is to review the different findings in the field of psychoneuroimmunology, from its beginnings to the present day, with a special focus on the role of stress, cytokines and microglia in the development of anxiety disorders.

This work, developed between November 2017 and May 2018, was elaborated by means of the survey and critical analysis of scientific articles, clinical trials, studies, registries and meta-analyzes, mostly published in the last 15 years, using as keywords: psychoneuroimmunology, anxiety disorders, immune-brain connectivity, and stress and immunity.

**Key words:** psychoneuroimmunology, stress, cytokines, inflammation, anxiety disorders

## **Lista de abreviaturas:**

ACTH- hormona adrenocorticotrófica  
APC- célula apresentadora de antígenos  
AR- artrite reumatoide  
AVP- arginina-vasopressina  
BHE- barreira hematoencefálica  
BDNF- fator neurotrófico derivado do cérebro  
COX- ciclo-oxigenase  
CRH- hormona libertadora de corticotrofina  
GABA- ácido gama-aminobutírico  
HPA- eixo hipotálamo-pituitário-adrenal  
IL- interleucina  
IFN- interferão  
LC-locus coeruleus  
LES- lupus eritematoso sistémico  
LPS- lipopolissacarídeo  
MS- esclerose múltipla  
NF-kB- fator nuclear kappa B  
PET- tomografia por emissão de positrões  
PNI- psiconeuroimunologia  
PVN- núcleo paraventricular  
ROS- espécies reativas de oxigénio  
RNS- espécies reativas de nitrogénio  
SAG- síndrome de adaptação geral  
SNA- sistema nervoso autónomo  
SNC- Sistema nervoso central  
SNS- sistema nervoso simpático  
TGF-fator de transformação do crescimento  
Th- célula T helper  
TNF- fator de necrose tumoral

## Índice

1. Agradecimentos.....	iv
2. Resumo.....	v
3. Abstract.....	vii
4. Lista de Abreviaturas.....	ix
5. Índice.....	x
6. Lista de figuras.....	xi
1. Introdução.....	1
2. Objetivos.....	4
3. Métodos.....	5
4. Stress.....	6
4.1. Definição e desenvolvimento histórico.....	6
4.2. Neurofisiologia do stress.....	8
4.2.1. Circuitos cerebrais.....	8
4.2.2. O eixo HPA.....	9
4.2.3. Interação entre o eixo HPA e o sistema imunitário.....	10
4.2.4. Fisiopatologia do eixo HPA.....	10
5. Psiconeuroimunologia (PNI).....	12
5.1. Perspetiva histórica.....	12
5.2. Uma abordagem sistémica ao sistema imunitário.....	12
5.3. Estudos realizados.....	15
6. Cérebro, um local de privilégio imune?.....	16
6.1. Microglia.....	16
6.2. Citocinas.....	17
6.2.1. Citocinas nas respostas imunitárias.....	17
6.2.2. Citocinas no SNC e o seu papel nos distúrbios neuropsiquiátricos.....	18
7. Ansiedade.....	20
7.1. Hipótese neuroimunológica da ansiedade: O papel do stress oxidativo.....	21
7.2. Evidências da neuroimunologia da ansiedade.....	23
8. Conclusão.....	25
9. Referências bibliográficas.....	26
10. Anexos.....	37

## **Lista de Figuras**

Figura 1: Representação esquemática simplificada do sistema do stress.....37

## Introdução

A ideia da existência de interações entre o sistema imunitário e o sistema nervoso central (SNC) tem vindo a despertar um enorme interesse na investigação dentro da área da psiconeuroimunologia (PNI). Esta corresponde ao campo científico que estuda a relação bidirecional entre o SNC e os sistemas imunitário e endocrinológico, assim como as implicações destas relações na saúde física e mental do homem<sup>1,2,3,4</sup>.

O SNC e o sistema imunitário são as duas maiores entidades adaptativas do organismo, sendo a função primordial da interação que estabelecem, a manutenção da homeostasia<sup>5</sup>. Atualmente é praticamente indubitável a noção de que o SNC controla o sistema imunitário, essencialmente via sistema nervoso autónomo (SNA) e eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) e que o sistema imunitário, por sua vez, via citocinas, quimiocinas e elementos celulares, ajuda a moldar o desenvolvimento e função do SNC<sup>2</sup>.

Há inúmeros estadios neurofisiológicos durante os quais as atividades do sistema neuronal e imune se encontram particularmente relacionadas; stress, ansiedade, raiva e medo são alguns dos exemplos de condições que envolvem participação substancial de mediadores tanto do sistema imune como do sistema nervoso, assim como de hormonas<sup>6</sup>. De fato, ainda que estes sistemas sejam funcionalmente independentes, há numerosas interações levadas a cabo pelas suas secreções químicas; catecolaminas, endorfinas, neuropeptídeos e citocinas, que por sua vez apresentam atividade pleiotrópica e redundância funcional<sup>6</sup>.

O stress psicológico é um determinante chave para a saúde e doença e seu papel estende-se a inúmeros distúrbios, dos quais se sabe que o surgimento e curso é influenciado pelo sistema imunitário<sup>7</sup>. Atualmente há evidências de que eventos agudos de stress estão geralmente associados a níveis aumentados de defesas imunitárias, pelo que stress crónico e sustentado foi por sua vez associado à supressão do sistema imune<sup>8</sup>. A explicação atualmente mais plausível para este fenómeno parece ser a de que o sistema imunitário apresenta a capacidade de seletivamente sobre e sub-regular as suas respostas perante diferentes condições<sup>5</sup>. Tome-se o exemplo da sobre regulação imunitária na presença de infeção e o retorno da atividade do sistema imunitário para níveis normais quando o estímulo agressor deixa de atuar, de forma a evitar respostas autoimunes potencialmente nefastas para o organismo<sup>8</sup>. Os diferentes padrões de resposta imunitária dependem do momento e duração do agente stressor e são modulados por hormonas de stress como é o caso dos glicocorticóides e das catecolaminas<sup>5</sup>.



Estudos crescentes têm vindo a enaltecer o papel de mediadores inflamatórios, como as citocinas, não só na modulação do comportamento e função neurológica, como também na fisiopatologia de distúrbios neurodegenerativos, neuropsiquiátricos e de co-morbilidades médicas altamente prevalentes nos dias que correm<sup>3</sup>. De fato, sabe-se que a sinalização cerebral por citocinas participa na regulação de funções que incluem: o metabolismo de neurotransmissores<sup>10</sup>, função neuroendócrina<sup>11,12</sup>, plasticidade sináptica e modulação dos neurocircuitos do humor<sup>14</sup>, pelo que a ocorrência de desregulação da sua função poderá estar relacionada com a ocorrência de inúmeros distúrbios neuropsiquiátricos<sup>15</sup>.

Ainda que durante muitos anos se tenha acreditado que a barreira hematoencefálica (BEH) prevenia o acesso de células do sistema imunitário para o cérebro, resultando na conceção de que o SNC era um local de privilégio imunitário, novos estudos e descobertas têm alterado drasticamente esta visão da inflamação<sup>20</sup>. De fato, tem vindo a tornar-se claro que a permeabilidade da BHE é modulada e que o trânsito de macrófagos periféricos e de leucócitos para o cérebro se encontra estritamente regulado, ajudando na manutenção da homeostasia cerebral e evitando a morte neuronal<sup>20,21</sup>. Assim sendo, apesar da seletividade imposta pela BHE, o SNC é capaz de responder a estímulos inflamatórios periféricos e de elicitar uma resposta inflamatória local conhecida como neuroinflamação<sup>9</sup>. Neste âmbito, destaca-se o papel da microglia, que corresponde aos macrófagos residentes no SNC e que constituem sua primeira linha de defesa do sistema imunitário inato no cérebro. Para além da sua evidente função protetora, a microglia tem vindo a ganhar protagonismo crescente devido a uma possível participação no normal desenvolvimento cerebral e na própria fisiopatologia de transtornos psiquiátricos<sup>23</sup>.

Os distúrbios da ansiedade correspondem ao maior grupo de transtornos psiquiátricos na maioria dos países ocidentais, estando associados a elevados níveis de incapacidade, custos e carga de doenças<sup>157</sup>. Estes caracterizam-se pela existência de medo excessivo e prolongado e pela adoção de comportamentos de evitação a ameaças eminentes, tanto externas (a situações sociais, por exemplo) como internas (a sensações corporais, por exemplo)<sup>160</sup>. Ainda que sejam descritos como uma entidade independente, encontram-se na maioria das vezes sobrepostos a outras co-morbilidades psiquiátricas (como a depressão) e/ou a distúrbios relacionados com o abuso de substâncias<sup>161</sup>.

Apesar da elevada prevalência e dos consideráveis prejuízos que acarretam, os transtornos de ansiedade permanecem ainda mal compreendidos, pelo que tem havido um esforço crescente por parte da comunidade médica e científica na procura

de esclarecimentos para os possíveis mecanismos que estão na sua base. Por sua vez, a evidência da relação entre o sistema imunitário e o sistema nervoso, assim como o seu encadeamento com o stress, tem vindo a atribuir um papel fundamental à PNI na compreensão espetro de doenças.

## **Objetivos**

A presente dissertação do tipo revisão bibliográfica, realizada no âmbito da unidade curricular "Dissertação/Projeto/Relatório de Estágio", tem como principal objetivo a revisão dos diferentes achados no campo da psiconeuroimunologia, desde os seus primórdios até à atualidade, com especial enfoque no papel do stress, das citocinas e da microglia no desenvolvimento dos transtornos de ansiedade.

## **Métodos**

Para a realização da dissertação, foi feito o levantamento e análise crítica de estudos atuais, ensaios clínicos e artigos científicos, publicados maioritariamente em revistas de alto impacto, acerca das várias temáticas que englobam a psiconeuroimunologia da ansiedade. A seleção foi realizada segundo os seguintes critérios: serem maioritariamente posteriores a 2002 (nos últimos 15 anos), em língua inglesa, e que incluíssem no título ou resumo as palavras-chave pretendidas: "psiconeuroimunologia", "stress", "citocinas", "inflamação", "distúrbios da ansiedade".

A pesquisa bibliográfica foi desenvolvida entre Novembro de 2017 e Maio de 2018 a partir da base de dados Medical Subject Headings para MEDLINE, utilizando motores de busca como PubMed, Science Direct e Uptodate.

## 1. Stress

### 1.1. Definição e Desenvolvimento histórico

A sobrevivência de todos os organismos vivos depende da sua capacidade em manterem um equilíbrio harmonioso, igualmente complexo e dinâmico, ao qual denominamos de homeostasia<sup>26</sup>. Este, contudo, é constantemente contrariado e posto em causa por fatores intrínsecos e ou extrínsecos, os chamados fatores de stress ou stressores<sup>24</sup>.

O stress pode ser definido como um estado de desarmonia ou de homeostasia ameaçada, que despoleta no organismo respostas adaptativas que podem ser específicas ou não específicas para o agente que as desencadeia<sup>24</sup>.

As respostas adaptativas a situações de stress agudo são há muito conhecidas e estudadas. Um dos trabalhos mais importantes na área foi desenvolvido em 1929, pelo distinto fisiologista Walter Cannon, que introduziu o conceito de respostas de ataque ou fuga, *fight or flight*, para descrever um conjunto de reações fisiológicas relativamente estereotipadas a situações de perigo emergente<sup>26</sup>. O aumento da atenção, do catabolismo, das frequências cardíaca e respiratória, assim como o aumento e redirecionamento do fluxo sanguíneo para o cérebro, coração e músculos, são exemplos de alterações fisiológicas típicas da resposta aguda ao stress, e visam a estimulação global do organismo, permitindo-lhe então combater a ameaça ou desencadear a fuga<sup>26</sup>. Estas respostas são essencialmente adaptativas e tendem a decorrer durante curtos períodos de tempo, cessando quando o estímulo agressor deixa de atuar<sup>26</sup>. De fato, já na década de 30, Cannon referia que a estimulação despoletada pelo stress poderia ter simultaneamente efeitos benéficos e deletérios, pelo que a estimulação prolongada do organismo em situações de stress, poderia ser nociva e prejudicial<sup>26</sup>.

Em 1936, por sua vez, Hans Seyle recorre ao conceito físico de stress, de modo a denominar as ações mútuas de forças que atuam no organismo. Este investigador estudou as consequências orgânicas da exposição prolongada a grandes quantidades de stress. Com esta finalidade, induziu em ratinhos uma variedade de agentes stressores, como raios X, grandes variações térmicas, injeções de insulina e exercícios prolongados, tendo evidenciado que perante a exposição a esses agentes, se desenvolvia hipertrofia das adrenais, involução dos nódulos linfáticos e erosões gástricas, sugerindo assim não só a mutabilidade do córtex adrenal, sistema imunitário e intestino, como também o facto de as respostas de *fight or flight*

inicialmente propostas por Cannon, representarem somente uma primeira reação, numa sequência de outras, que o organismo produz quando o stress é constante e duradouro. Ao conjunto das alterações adaptativas ao stress, Seyle denominou de Síndrome de adaptação geral (SAG) ou síndrome de stress (Seyle, 1936, 1956, 1985). O SAG foi descrito segundo um modelo de três etapas sequenciais das reações corporais ao stress prolongado: fase de alarme, fase de resistência e fase de exaustão (Seyle, 1950).

A fase de alarme inicia-se mal o organismo identifica a presença de um agente stressor. Este reconhecimento leva à ativação do eixo HPA, que por sua vez induz a uma série de alterações hormonais envolvendo a CRH, a ACTH e o cortisol, assim como a ativação do SNS, que por estimulação da medula adrenal leva à libertação de adrenalina e noradrenalina<sup>37</sup>. O resultado final corresponde à reação relativamente estereotipada e inespecífica de *fight or flight* originalmente descrita por Cannon<sup>26</sup>. De notar que nesta fase, elevados níveis de cortisol vão suprimir o sistema imunitário<sup>26</sup>. Enquanto a fase de alarme envolve maioritariamente a ativação e mobilização dos mecanismos de defesa do corpo, a segunda fase, de resistência ou adaptação, surge como uma tentativa do corpo de se adaptar aos estímulos despoletadores de stress (Seyle, 1950). O corpo tenta então resistir de uma forma menos ativa à perceção da ameaça, cooperando e adaptando-se ao stress de uma forma mais eficaz. O objetivo é o de atingir a homeostasia, ou balanço interno, ao reduzir a intensidade da atividade endócrina e simpática, que ainda assim, permanece superior à do estado basal, ainda que inferior à da fase de alarme. Durante esta fase, a adaptação ao stress é feita com a ajuda da libertação de glicocorticóides por parte do córtex adrenal. O corpo tenta então normalizar as frequências e débitos cardíacos, assim como a pressão arterial. Se o estímulo stressor persistir e consequentemente esta fase se prolongar, contudo, pode dar-se a depleção da energia “adaptativa” do organismo, levando a um conjunto de sintomas como: fadiga, irritabilidade, perda de concentração e letargia (Seyle, 1950). Caso o stress persista, o organismo entra então na fase de exaustão. Esta decorre quanto há o esgotamento das reservas de energia e do próprio sistema imunitário. De acordo com Selye, a contínua exposição ao stress leva à exaustão adrenal, de modo que o consequente enfraquecimento das defesas do organismo passa a ter um efeito adverso na saúde física e emocional (Selye, 1950). O stress crónico encontra-se relacionado com níveis sanguíneos persistentemente altos de cortisol, o que pode levar a alterações imunitárias, digestivas, circulatórias, entre outras<sup>35,58</sup>. Da mesma forma, parece levar a uma maior predisposição para fadiga, depressão e ansiedade<sup>35,58</sup>. Para além disso, os níveis reduzidos de energia e glicose

sanguíneas, caraterísticos desta fase, podem levar à exaustão física e mental extremas e suscetibilidade às doenças de adaptação, das quais se realçam: úlceras, enfarte agudo do miocárdio e hipertensão arterial (Seyle, 1950).

Para além do SAG, Seyle caraterizou a hormona libertadora de corticotrofina (CRH) e outros péptidos a ela relacionados (recetores, agonistas e antagonistas), tendo também identificado as suas vias de sinalização, enaltecendo nomeadamente o seu papel nas respostas endócrinas (por ativação do HPA), comportamentais (na ansiedade, depressão, alterações do apetite), autonómicas (por ativação do sistema nervoso simpático) e imunológicas.

Contribuições subsequentes por parte de Geoffrey Harris, nos anos 50, estabeleceram que a secreção de hormona adrenocorticotrópica (ACTH) induzida pelo stress envolvia um controlo nervoso via hipotálamo e vasos hipofisários<sup>27,28,29,30</sup>. O suporte bioquímico destas investigações surgiu 15 anos depois, quando Guillemin, um antigo aluno de Selye, e a sua equipa, demonstraram de forma independente a existência de fatores hipotalâmicos que elicitavam a libertação de ACTH a partir da glândula pituitária de roedores<sup>31,32,33,34</sup>.

## **1.2. Neurofisiologia do Stress**

### **1.2.1. Circuitos cerebrais**

Os circuitos cerebrais que iniciam e mantêm a resposta ao stress encontram-se ilustrados na figura 1. A maioria dos elementos que regulam o controlo central do stress encontram-se no hipotálamo e nos tecidos cerebrais e incluem a CRH parvocelular e os neurónios arginina-vasopressina (AVP) do núcleo paraventricular (PVN) do hipotálamo, assim como o locus ceruleus (LC)<sup>35</sup>. O HPA, juntamente com o sistema nervoso simpático (SNS), representam os constituintes efetores através dos quais o cérebro influencia todos os órgãos corporais durante a exposição ao estímulo stressor (Fig. 1)<sup>37</sup>. Durante as respostas, evidenciam-se interações mútuas entre as três áreas cerebrais responsáveis pelo controlo da resposta ao stress, nomeadamente: o sistema mesocortical/mesolímbico, responsável pelos fenómenos antecipatórios; o complexo amígdala/hipocampo, responsável pela iniciação, propagação e terminação da atividade do sistema do stress e o núcleo arqueado, relacionado com a configuração das sensações dolorosas<sup>38,39,40</sup>.

### 1.2.2. O eixo HPA

O hipotálamo controla a secreção de ACTH a partir da adenohipófise, que por sua vez estimula a secreção de hormonas glicocorticóides pelo córtex adrenal, sendo o cortisol a hormona mais representativa nos humanos. O principal estímulo hipotalâmico para o eixo HPA corresponde à CRH<sup>41,42</sup>. Conjuntamente com a CRH, a arginina-vasopressina (AVP) revela-se um importante fator estimulador da secreção de ACTH, contudo, isoladamente apresenta uma atividade secretagoga muito reduzida<sup>41,42</sup>.

Na ausência de stress, tanto a CRH como a AVP são secretadas no sistema portal de forma pulsátil de acordo com o ritmo circadiano, sendo a frequência aproximada de dois a três episódios secretores por hora<sup>43</sup>. Em condições de repouso, a amplitude dos pulsos de secreção da CRH e da AVP aumenta nas primeiras horas da manhã, levando aos picos de secreção da ACTH e do cortisol<sup>44,45</sup>. Estas variações diurnas são alteradas por alterações da luminosidade, horários alimentares e de atividade, assim como pelo stress<sup>44</sup>.

Durante episódios agudos de stress, a amplitude e sincronização das pulsações da CRH e da AVP no sistema portal hipofisário aumentam marcadamente, resultando em picos secretórios do cortisol e da ACTH<sup>46</sup>. Dependendo da natureza do agente causador de stress, outros fatores são secretados, podendo atuar nos vários componentes do eixo HPA de modo a potenciar a sua atividade; exemplos de mediadores são as AVPs com origem em neurónios magnocelulares, a angiotensina II e várias citocinas e mediadores inflamatórios<sup>48,49</sup>. Ainda que os níveis de ACTH em circulação sejam o principal fator regulador da secreção de glicocorticóides pelo córtex adrenal, outras hormonas e citocinas, tanto com origem na medula adrenal como na circulação sistémica, assim como a informação neuronal proveniente da inervação autonómica para o córtex adrenal, podem participar na regulação da secreção do cortisol<sup>50</sup>.

Os glicocorticóides são os efetores finais do eixo HPA e participam no controlo homeostático de todo o organismo, sendo o seu papel fulcral na resposta ao stress. Estes apresentam um papel central na regulação da atividade basal do eixo HPA e na terminação da resposta ao stress por atuarem em centros extra-hipotalâmicos, no próprio hipotálamo e na glândula pituitária<sup>51</sup>. O feedback negativo induzido pelos glicocorticóides na resposta secretória da ACTH ocorre de forma a limitar a duração da exposição dos tecidos aos glicocorticóides, limitando assim os efeitos catabólicos, antireprodutivos e imunossupressivos destas hormonas<sup>52</sup>.



### **1.2.3. interação entre o eixo HPA e o sistema imunitário**

Como tem vindo a ser descrito na presente dissertação, sabe-se que há uma relação intrínseca entre o stress, tanto de origem traumática, inflamatória ou psicológica, e a ativação do eixo HPA, sendo que a ligação entre eles estabelecida foi um dos pontos de partida para o estudo das relações entre o SNC e o sistema imunitário. De fato, no início da década de 90, começou a tornar-se aparente que constituintes do sistema imunitário, como as citocinas e outros mediadores humorais de inflamação, atuavam como potentes ativadores da resposta central ao stress, constituindo um ramo aferente da alça de feedback através da qual o sistema imunológico e o SNC comunicam<sup>35</sup>.

Mais especificamente, verificou-se que as três citocinas inflamatórias: fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucina-1b (IL-1b) e interleucina 6 (IL-6) poderiam estimular o eixo HPA isoladamente ou em sinergia<sup>35</sup>. Por outro lado, evidenciou-se também que a ativação do eixo HPA levava a efeitos profundamente inibitórios na resposta imunitária, algo compreensível na medida em que virtualmente todos os componentes da resposta imunitária são inibidos pelo cortisol<sup>35</sup>. De fato, dentro dos efeitos imunossuppressores dos glicocorticóides, incluem-se: alterações na função e tráfego leucocitário, redução da produção de citocinas e mediadores inflamatórios e inibição do efeito dos últimos nos tecidos-alvo<sup>35,53</sup>.

Quando falamos de interações entre o eixo HPA e o sistema imunitário, não podemos desprezar a participação substancial do sistema nervoso simpático (SNS). Este encontra-se reciprocamente relacionado com o sistema da CRH, ao receber e transmitir sinais humorais e nervosos da periferia, ao inervar os órgãos linfoides primários e secundários e ao atingir todos os locais de inflamação via neurónios pós-ganglionares simpáticos<sup>53</sup>. Em situações de stress, a ativação do SNS leva a efeitos diretos nos órgãos imunitários, que podem ser tanto imunossuppressores, como simultaneamente imunopotenciadores e anti-inflamatórios<sup>53,56,57</sup>.

### **1.2.4. Fisiopatologia do eixo HPA**

Como já foi referido, a resposta ao stress com consequente ativação do sistema HPA é gerada de forma a ter uma duração curta, ou pelo menos, limitada. A necessidade de limitar temporalmente este processo reside no fato de esta se acompanhar de efeitos anti-reprodutivos, anti-crescimento, catabólicos e imunossuppressivos, que só serão benéficos se numa situação de stress, forem ativados durante períodos limitados. Em contraste, a cronicidade da ativação dos sistemas de stress tenderá a levar à

síndrome descrita inicialmente por Seyle (Seyle, 1936). Visto que a CRH controla a adaptação comportamental, neuroendócrina e autonómica durante situações de stress, a produção aumentada e prolongada deste fator pode explicar, em parte, a patogénese do síndrome<sup>37</sup>. O exemplo protótipo da hiperativação crónica do sistema do stress corresponde à depressão melancólica, com hiperstimulação disfórica e relativa imunossupressão<sup>37</sup>. De fato, nestas circunstâncias, evidencia-se um aumento da secreção do cortisol e uma resposta reduzida da ACTH plasmática ao CRH. A hipersecreção da CRH tem vindo a ser demonstrada em indivíduos depressivos e este fato sugere o papel desta na iniciação ou perpetuação de um ciclo vicioso (Seyle, 1936). Devido a uma hiperatividade crónica do sistema do stress, os doentes com depressão podem vir a desenvolver inúmeras sequelas somáticas, como é o caso da osteoporose, características da síndrome metabólica, graus variáveis de aterosclerose, imunossupressão do sistema nervoso inato e das respostas imunitárias celulares, assim como uma maior predisposição a determinadas doenças infecciosas e neoplásicas<sup>55,56</sup>.

Adicionalmente à depressão melancólica, um espectro amplo de outras doenças pode estar associado à ativação aumentada e prolongada do eixo HPA, incluindo anorexia nervosa com ou sem malnutrição, distúrbio obsessivo-compulsivo, transtorno de pânico, diabetes mellitus mal controlada e hipertireoidismo<sup>35,58</sup>.

## **2. Psiconeuroimunologia (PNI)**

### **2.1. Perspetiva histórica**

O primeiro estudo que pode ser associado à psiconeuroimunologia foi publicado em 1919 e sugeria a influência das emoções negativas no sistema imunitário de doentes com tuberculose (Ishigami, 1919). Nos anos 20, uma série de estudos em animais foram conduzidos por discípulos de Pavlov, com o intuito de se compreender a relação entre o cérebro e o sistema imunitário via condicionamento clássico. Já nos anos 50 e 60, um pequeno número de estudos foram conduzidos na tentativa de se compreender de que forma o stress psicológico poderia influenciar a suscetibilidade à infecção<sup>59</sup>, assim como exacerbar doenças autoimunes como o Lupus Eritematoso Sistémico (LES)<sup>60</sup> e a Artrite Reumatoide (AR)<sup>61</sup>. O termo psiconeuroimunologia, contudo, não tinha ainda surgido até 1981, altura em que é utilizado para descrever um estudo de revisão acerca da relação entre comportamento e processos imunes, endocrinológicos e neuronais<sup>62,63</sup>. Em 1986 deu-se o primeiro encontro referente à psiconeuroimunologia, durante o qual foram colocadas questões-chave, de entre as quais: (1) Há interações entre o cérebro e o sistema imunitário?; (2) em caso afirmativo, como são estas mediadas?; (3) serão bidirecionais?; e (4) qual o seu impacto na compreensão da saúde e doença?<sup>63</sup>.

### **2.2. Uma abordagem sistémica ao sistema imunitário**

Na presente dissertação, evitarei uma abordagem extensiva ao sistema imunitário, tentando antes abordar determinadas ideias e conceitos que considero relevantes para a compreensão do trabalho desenvolvido.

O sistema imunitário corresponde a uma rede orquestrada de tecidos, células e moléculas dispersas pelo corpo, que têm a função de proteger o hospedeiro da invasão por agentes externos<sup>64</sup>. Ainda que seja frequentemente dividido em inato e adaptativo, estes componentes do sistema imunitário partilham semelhanças e agem mutuamente, atuando como sistemas complementares<sup>64</sup>. Por exemplo, tanto o sistema inato como o adaptativo executam três funções básicas: deteção da ameaça, resposta à ameaça e regulação da resposta desenvolvida<sup>64</sup>. Única ao sistema imunitário adaptativo, é a capacidade de gerar memória imunitária protetora, isto é, de despoletar respostas rápidas ativadas pelo encontro subsequente com patógenos específicos<sup>64</sup>. O sistema imunitário inato corresponde à primeira linha de defesa do organismo e

consiste em inúmeros tipos celulares que detetam agentes invasores a partir de recetores de padrão não específicos<sup>65</sup>. Macrófagos, células dendríticas, neutrófilos e células epiteliais pertencem a este grupo<sup>65</sup>. O reconhecimento despoleta a produção de moléculas efetoras, incluindo espécies reativas de oxigénio (ROS), assim como de citocinas e quimiocinas, tanto pró-inflamatórias como imunossupressoras, e que por sua vez recrutam células e modulam a resposta desenvolvida<sup>64</sup>. As células apresentadoras de antígenos (APC), como as células dendríticas, são então ativadas, transportando o antígeno para o seu processamento nos órgãos linfóides onde interagem com células B e T do sistema imunitário adaptativo, iniciando assim uma resposta imunitária específica para o antígeno. Células T helper (Th) CD4+ são então geradas e passam a diferenciar-se em quatro tipos celulares principais; Th1, Th2, Th17 e células T reguladoras (Treg), com base no repertório de citocinas e na presença de moléculas co-estimulantes<sup>66</sup>. Células B específicas para antígenos e células T CD8+ são também estimuladas durante o processo nos órgãos linfóides secundários<sup>66</sup>.

A interleucina 12 (IL-12) e o interferão gama (INF-gama) produzidas pelo sistema imunitário inato, induzem respostas de Tipo 1, ou Th1, que são dominadas pela produção de INF-gama e de interleucina 2 (IL-2). Estas citocinas ativam macrófagos e células T CD8+ citotóxicas específicas para antígenos, de forma a destruir células infetadas com microrganismos intracelulares<sup>64</sup>. As respostas de Tipo 2, ou Th2, ocorrem quando a interleucina 4 (IL-4) é a citocina predominante e nelas as células T CD4+ Th2 participam em respostas alérgicas, humorais e antiparasitárias. A presença do fator de transformação do crescimento beta (TGF-beta), interleucina 6 (IL-6), interleucina 21 (IL-21) e de interleucina 23 (IL-23) induz a diferenciação das células T CD4+ Th17, que por sua vez despoletam uma reação pró-inflamatória potente caracterizada pela ativação de neutrófilos, e que atua no sentido de eliminar patógenos extracelulares<sup>66</sup>. As células T CD4+ Th17 também parecem participar em doenças inflamatórias e distúrbios autoimunes. Adicionalmente aos três tipos de células efetoras mencionadas, células T CD4+ expostas ao TGF-beta também podem ser induzidas a diferenciar-se em células Treg com propriedades imunossupressoras e anti-inflamatórias<sup>66</sup>.

Os linfócitos B correspondem a um componente adicional da resposta imunitária adaptativa, sendo críticos para as respostas imunitárias humorais dirigidas a patógenos extracelulares<sup>64</sup>. Através da influência de citocinas e da interação entre células T e APCs nos órgãos linfóides secundários, as células B diferenciam-se em plasmablastos secretores de anticorpos, que migram para a medula óssea onde

completam a sua diferenciação em plasmócitos com semivida longa responsáveis pela produção prolongada de anti-corpos<sup>67</sup>.

Para além dos mecanismos mencionados, é importante ter-se em conta que o próprio sistema imunitário se vai alterando durante o normal desenvolvimento, pelo que muitas das alterações podem ser importantes para o estudo do impacto do stress no sistema imunitário e consequentemente para estudos no âmbito da PNI<sup>65,69</sup>. As alterações na resposta imunitária são mais facilmente detetáveis ao nível dos extremos de idades, tendo especial relevo o fato de, em adultos com idades mais avançadas, parecer haver alteração nas frequências relativas dos recetores de padrão de reconhecimento, assim como uma redução na capacidade efetora do sistema imunitário inato<sup>65</sup>. Estas alterações acompanham-se por níveis aumentados das citocinas pró-inflamatórias IL-6 e TNF-alfa, dando origem a um estado normalmente designado de *inflammaging*<sup>65</sup>. Adicionalmente, em idades mais avançadas é notável o processo de imunossenescência caracterizado pela acumulação de células T de memória terminalmente diferenciadas, combinado com a escassez de células T *naive* capazes de responder a novas ameaças<sup>65</sup>. Há também uma mudança relativa das respostas de Tipo 1 para respostas de Tipo 2 e diminuição da imunidade mediada por células<sup>65</sup>. Os marcadores de imunossenescência associam-se ao envelhecimento normal e tem vindo a sugerir-se que este processo pode ser acelerado em indivíduos expostos a stress<sup>65</sup>.

Na tentativa de responder à primeira questão proposta nos primórdios da psiconeuroimunologia: há interações entre o cérebro e o sistema imunitário? surgiu a necessidade de abandonar o conceito convencional de que o sistema imunitário atua de forma independente e autónoma, pelo que a perspectiva de sistemas gerais do organismo (von Bertalanffy, 1969) veio a revelar-se fundamental. Com base neste conceito, deveríamos esperar que os vários sistemas que constituem o organismo desenvolveram a capacidade de interagir de forma coerente entre si e com o propósito de manter um equilíbrio dinâmico adaptando-se aos desafios impostos pelo ambiente interno e externo ao organismo<sup>5</sup>. Ainda que o sistema imunitário consiga explicar por si só um número importante de fenómenos, é somente a partir do estudo das interações entre os elementos que o constituem, assim como a interação deste com outros sistemas, que se torna possível compreender o comportamento deste sistema como um todo<sup>98</sup>.

### 2.3. Estudos realizados

Um dos estudos iniciais no âmbito da PNI foi realizado por Ader e Cohen<sup>72</sup>, no qual ratinhos foram expostos a um estímulo condicionado novo, o paladar da sacarina, e seguidamente injetados com um agente imunossupressor, a ciclofosfamida, que atuou como o estímulo não condicionado<sup>72</sup>. A ciclofosfamida, quando administrada, produz um efeito de *sickness*, no qual se inclui as náuseas e vômitos, e que na experiência presente levou, conseqüentemente, à aversão ao paladar do estímulo condicionado, pelo que os ratinhos passaram a evitar a água que o continha<sup>72</sup>. Quando os investigadores começaram a forçar os ratinhos ao consumo da solução de sacarina, notaram que estes começaram a morrer, e repararam também que a taxa de mortalidade se encontrava diretamente relacionada com a quantidade de sacarina consumida<sup>72</sup>.

A partir destes achados, os investigadores propuseram a teoria de que os ratinhos morriam porque o sabor da sacarina, por si só, era suficiente para elicitar sinais neuronais que suprimiam o seu próprio sistema imunitário, de forma semelhante à que seria esperada numa situação de overdose por ciclofosfamida, o "verdadeiro" imunossupressor<sup>72</sup>.

Posteriormente, várias linhas de evidência foram convergindo, de forma que se tornou praticamente incontornável negar a relação entre o cérebro e o sistema imunitário. Felten e os seus colegas observaram não só que o baço e outros órgãos linfoides apresentavam inervação simpática, assim como que níveis periféricos de catecolaminas eram capazes de modular uma grande variedade de respostas imunitárias; em particular, a perda de catecolaminas esplénicas resultava na redução das respostas proliferativas de células B e T<sup>73</sup>. Por outro lado, verificou-se que alterações nos níveis de numerosas hormonas e neurotransmissores eram capazes de induzir uma série de alterações na função imunitária e vice-versa, fato que pode ser explicado pelo menos em parte pela presença de recetores para um amplo espectro de hormonas nas células linfoides, de entre os quais, recetores de glucocorticoides<sup>74</sup>, recetores beta adrenérgicos<sup>75</sup> e recetores para a prolactina e hormona do crescimento<sup>76</sup>.

### 3. Cérebro, um local de privilégio imune?

#### 3.1. Microglia

A microglia é composta por macrófagos, elementos do sistema imunitário inato, que constituem a primeira linha de defesa do cérebro<sup>77</sup>.

A migração da microglia para o cérebro inicia-se durante o desenvolvimento fetal, pelo que a sua concentração apresenta um pico logo após o nascimento e a partir daí declina<sup>78</sup>. Esta reside em todo o cérebro, mas é recrutada preferencialmente para regiões específicas e que apresentam um desenvolvimento dinâmico<sup>78</sup>. Para além da sua participação na monitorização do microambiente local, participam também na defesa e reparo tecidulares a partir de inúmeros mecanismos, incluindo a fagocitose e secreção de citocinas<sup>79</sup>. Normalmente inativados em condições fisiológicas, os macrófagos da microglia podem transformar-se na sua forma ativada em resposta à lesão tecidual ou à invasão por patógenos, promovendo uma resposta inflamatória a partir da libertação de fatores que despoletam respostas semelhantes às geradas por células imunitárias ativadas na periferia<sup>80</sup>. Estas respostas endógenas e exógenas no SNC, contudo, não atuam isoladamente, mas antes interagem mutuamente<sup>81</sup>.

A microglia também tem vindo a ganhar protagonismo crescente devido à sua possível participação na génese de psicopatologias. Por exemplo, num estudo realizado em ratinhos knock-out, esta foi identificada como o tipo celular crítico no processo de poda sináptica, uma função essencial ao normal desenvolvimento cerebral<sup>79</sup>; ratinhos com redução induzida da microglia, apresentaram circuitos cerebrais imaturos e comportamentos ansiosos<sup>78</sup>. Resultados como estes sublinham o papel do sistema imunitário na plasticidade neuronal, ou as mudanças celulares em curso no cérebro pelas quais as sinapses são formadas, modificadas e podadas de forma a criar circuitos neurais eficientes<sup>82</sup>. Estudos animais também têm comprovado que a microglia é capaz de fagocitar diretamente detritos celulares e células neuronais precursoras, moldando assim o desenvolvimento precoce do cérebro<sup>83</sup>. Várias outras características da microglia se revelam notáveis. Uma delas é a demonstração, em roedores, que a exposição ao stress aumenta a ativação da microglia, e que pode ser contrariada pela administração de drogas como a minociclina, que inibe a ativação da mesma<sup>84</sup>. Para além disso, uma deficiência específica na microglia, tem sido associada a alteração no comportamento de ratinhos, semelhante ao atribuível transtorno obsessivo-compulsivo nos humanos<sup>84</sup>. Igualmente importante, foi o fato de ter sido observado que durante o desenvolvimento, havia alteração na estrutura e

função da microglia (por exemplo, nas citocinas libertadas, incluindo IL-1 beta), algo especialmente evidente em determinadas zonas do cérebro, como é o caso do hipocampo, córtex e amígdala, regiões responsáveis, em parte, pela regulação das emoções<sup>85</sup>. É de notar que a maioria destes achados foram obtidos a partir de modelos com roedores, pelo que no homem esses estudos só têm vindo a ser conseguidos em autópsias; contudo, alguns estudos com recurso à tomografia por emissão de positrões (PET) têm vindo a estudar a atividade da microglia ativada em várias doenças, pelo recurso a partículas radioativas que se ligam seletivamente a esse tipo celular<sup>86</sup>.

Ainda que a evidência de que há atividade imunitária no cérebro seja ampla, a natureza precisa destas relações permanece de difícil compreensão. Estudos animais, por exemplo, revelam que a IL-1 pode tanto facilitar, como dificultar o processo de memória<sup>87</sup>. De forma semelhante, a microglia parece ter uma função tanto neuroprotetora como destrutiva no desenvolvimento e função cerebral<sup>87</sup>. A natureza complexa destas relações sublinha a natureza multifacetada da comunicação entre o SNC e o sistema imunitário, assim como o envolvimento de inúmeros fatores.

### **3.2. Citocinas**

Os mensageiros químicos são o alfabeto biológico que permite a comunicação intrínseca entre os sistemas nervoso e imune. A "linguagem" construída pelo cérebro e órgãos do sistema imunitário, traduzida sob a forma de interações químicas entre péptidos e citocinas constitui uma espécie de "discurso biológico" permanente, capaz de elaborar respostas que constituem a expressão rotineira da atividade de todo o sistema<sup>88</sup>.

#### **3.2.1 Citocinas nas respostas imunitárias**

As citocinas são mediadores solúveis bioativos libertados por inúmeros tipos celulares tanto à periferia (por monócitos e macrófagos, por exemplo), como no cérebro (pela microglia, astrócitos, oligodendrócitos e neurónios), pelo que participam numa rede complexa, atuando antagonística ou sinergicamente<sup>89</sup>. Estão geralmente relacionadas com inflamação, ativação imune e morte ou diferenciação celular, pelo que incluem: interleucinas (ILs), fatores de necrose tumoral (TNFs), interferões (IFNs), quimiocinas e fatores de crescimento (como o fator neurotrófico derivado do cérebro, BDNF)<sup>89</sup>. Em termos funcionais, numa resposta imunitária, a produção das citocinas é



orquestrada tanto pelas células Th1, que geralmente medeiam respostas celulares imunitárias pró-inflamatórias, como pelas células Th2, que estimulam as respostas imunitárias humorais<sup>90</sup>. Citocinas pró-inflamatórias como a IL-1, IL-6, INF-gama e TNF-alfa, estimulam a resposta imunitária de forma a acelerar a eliminação de patógenos e a resolução do desafio inflamatório; por outro lado, citocinas anti-inflamatórias como a IL-4, IL-10 e IL-13 deprimem a resposta imunitária ao reduzir a atividade celular e a síntese de citocinas pró-inflamatórias<sup>91</sup>. O balanço entre as células Th1 e Th2 é uma condição determinante para a contenção da resposta inflamatória<sup>92</sup> e um balanço delicado das mesmas é necessário<sup>92,93</sup>.

### **3.2.2. Citocinas no SNC e o seu papel nos distúrbios neuropsiquiátricos**

Banks e os seus colegas demonstraram que citocinas pró-inflamatórias, incluindo a IL-6, IL-1 e o TNF-alfa, podiam ser transportadas através da BHE, alterando diretamente a função do SNC<sup>94</sup>, assim como ativando astrócitos e microglia, estimulando a síntese acrescida de citocinas. De fato, rotas específicas das citocinas periféricas no cérebro são conhecidas<sup>92,93</sup>. Estas parecem alcançar o SNC a partir de vias humorais, neuronais e celulares, segundo os seguintes mecanismos: (i) a partir das regiões "leaky" da BHE<sup>93</sup>; (ii) por transporte ativo a partir de moléculas transportadoras saturáveis específicas no endotélio cerebral<sup>93</sup> (iii) a partir da ativação de células endoteliais e indução da libertação de segundos mensageiros como as prostaglandinas e o óxido nítrico<sup>93</sup>; (iv) via fibras nervosas aferentes, como é o caso do nervo vago<sup>93</sup>; e (v) a partir de monócitos periféricos ativados que penetram o parênquima cerebral<sup>93</sup>.

O tremendo crescimento na compreensão do papel das citocinas pró-inflamatórias estende-se atualmente a múltiplos distúrbios psiquiátricos e psicológicos como é o caso da depressão e da ansiedade<sup>93</sup>. De fato, um balanço delicado entre citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias é necessário para a regulação normal da função neuropsiquiátrica<sup>95</sup>.

As citocinas são capazes de levar a alterações do comportamento a partir do seu efeito nas seguintes funções: (i) Atividade neuroendócrina : as citocinas podem alterar a função do eixo HPA via efeitos estimulantes na expressão e libertação de CRH, ACTH e cortisol <sup>3,96</sup>; (ii) Função neurotransmissora: as citocinas podem alterar o metabolismo da serotonina, dopamina e glutamato<sup>10</sup>; (iii) Neurogênese: as citocinas podem afetar a neurogênese ao ativarem o fator nuclear kappa B (NF-kB ) em células

B ativadas; e por fim (iv) Neurocircuitos: os gânglios basais e as regiões subgenual e dorsal do córtex cingulado anterior são regiões alvo de citocinas<sup>92,97</sup>. Dentro das consequências comportamentais da atividade das citocinas no cérebro, destacam-se: depressão, ansiedade, fadiga, lentificação psico-motora, anorexia, disfunção cognitiva e distúrbios de sono<sup>92,93</sup>.

Para além disso, sabe-se que as citocinas são capazes de modular a atividade neuronal em regiões específicas do cérebro como a amígdala, o hipocampo, o hipotálamo e o córtex cerebral<sup>98,99</sup>. É interessante notar que estas regiões cerebrais tinham sido anteriormente implicadas na regulação da resposta ao stress<sup>100</sup>. É relativamente aparente que stress psicológico, infeção ou inflamação tanto no cérebro como na periferia, pode modular a expressão de citocinas no SNC<sup>101</sup>. As consequências comportamentais destes efeitos incluem a ocorrência de inúmeros distúrbios neuropsiquiátricos<sup>92,93</sup>.

O padrão de elevação de citocinas pró-inflamatórias perante stress crónico, mimetiza o processo de *inflammaging* ou imunossenescência na idade adulta avançada, caracterizado por declínio das respostas adaptativas, expansão do pool de células T CD8+ efectoras envelhecidas e redução nos níveis de células T naive<sup>102,103,104</sup>, como já foi abordado anteriormente.

#### 4. Ansiedade

Os distúrbios de ansiedade correspondem ao maior grupo de distúrbios mentais na maioria das sociedades ocidentais, constituindo uma das principais causas de incapacidade e estando associados a custos substanciais e a uma alta carga de doenças<sup>157</sup>.

De acordo com grandes pesquisas de base populacional, até 33,7% da população é afetada por um transtorno de ansiedade durante sua vida<sup>105</sup>. A prevalência na Europa e nos Estados Unidos tende a ser superior, pelo que alguns dados sugerem que países menos desenvolvidos estão relacionados com prevalências mais reduzidas da doença<sup>158</sup>. Ainda que se considere que correspondam a um grupo de transtornos em prevalência crescente, tal fato não tem vindo a ser evidenciado, pelo que a esta tem permanecido constante nas últimas décadas<sup>105</sup>.

A maioria dos casos desenvolve-se durante a infância, adolescência ou início da vida adulta<sup>159</sup>, com predominância no sexo feminino, num rácio aproximado de 2:1<sup>157</sup>.

Apesar de na ausência de tratamento tenderem à cronicidade, 40% dos doentes apresentam uma redução dos sintomas com o passar do tempo<sup>159</sup>.

Este espectro de distúrbios inclui várias patologias que partilham entre si a existência de medo e ansiedade excessivas, sendo que o medo pode ser visto como uma resposta emocional a uma ameaça iminente, real ou percebida, e a ansiedade, à antecipação de uma futura ameaça<sup>160</sup>.

Os distúrbios de ansiedade diferem entre si em função do tipo de objetos ou situações que despoletam medo, ansiedade e comportamentos de evitação, assim como pela capacidade de ideação cognitiva<sup>160</sup>. Estes ocorrem com frequência juntamente com a depressão e/ou outras co-morbilidades psiquiátricas, tendo se evidenciado que cerca de 60-90% destes doentes apresentam co-morbilidades psiquiátricas e/ou distúrbios relacionados com o abuso de substâncias<sup>161</sup>. Apesar desta considerável sobreposição, os diferentes tipos podem ser diferenciados a partir de uma avaliação cuidadosa do tipo de situações que são temidas ou evitadas, no contexto dos pensamentos e crenças que lhes estão associadas<sup>160</sup>. É importante notar que os distúrbios de ansiedade diferem do medo e da ansiedade normativos para o desenvolvimento, por serem excessivos ou persistentes para além dos períodos desenvolvimentais apropriados<sup>160</sup>, com uma duração tipicamente igual a superior a 6 meses, ainda que o critério de duração seja visto como uma ferramenta guia passível de alguma flexibilidade<sup>160</sup>.

De acordo com a 5ª edição do Manual de Diagnóstico e Estatística dos Transtornos Mentais (DSM-V)<sup>160</sup>, podemos classificar os diferentes distúrbios de ansiedade em:

transtorno de ansiedade de separação (SAD), mutismo seletivo (SM), fobias específicas (SF), distúrbio de ansiedade social (fobia social), agorafobia, distúrbio de ansiedade generalizada (GAD), distúrbios de ansiedade induzidos por substâncias ou fármacos e distúrbios de ansiedade devido a outras condições médicas, pelo que mais de 50% dos doentes apresentam vários tipos sobrepostos<sup>157,160</sup>.

#### **4.1. Hipótese neuroimunológica da ansiedade: O papel do stress oxidativo**

Como tem vindo a ser abordado na presente dissertação, estudos crescentes têm vindo a comprovar o papel do sistema imunitário, nomeadamente, da microglia e das citocinas, na modulação de inúmeras funções neurológicas, que se manifestam, entre outras, em alterações comportamentais e que contribuem para o desenvolvimento de psicopatias. Apesar do enorme impacto dos distúrbios da ansiedade na sociedade atual, os mecanismos fisiopatológicos que estão na sua base permanecem ainda de difícil compreensão. Após a revisão de inúmeros estudos publicados, pareceu-me relevante expor, perante a temática da PNI, uma das hipóteses atualmente propostas para o desenvolvimento da ansiedade, e que se relaciona estritamente com o papel do sistema imunitário e da inflamação, aspetos centrais deste trabalho.

O stress oxidativo corresponde a um estado em que o nível de oxidantes (hidrogénio, peróxido, superóxido, óxido nítrico, entre outros) produzidos por reações biológicas, excede a capacidade do organismo os depurar<sup>106</sup>. Estes oxidantes alteram macromoléculas celulares como proteínas, DNA e lípidos, alterando a função celular<sup>106</sup>. Um aumento do dano oxidativo ocorre na maioria, se não em todas as doenças humanas, contudo, a sua ocorrência como fator causal parece evidente somente em determinadas patologias<sup>107</sup>. O papel do stress oxidativo no desenvolvimento de doenças neurodegenerativas encontra-se bem documentado<sup>107,108</sup>. Em relação aos distúrbios da ansiedade, inúmeras teorias têm sido propostas ao longo dos anos para concetualizar a sua patofisiologia. Dentro destas, destacam-se os défices na neurotransmissão, mutações genéticas, excitotoxicidade e stress<sup>108</sup>. Enquanto a maioria das teorias clássicas sugerem o envolvimento de mecanismos tradicionais de transdução de sinal, incluindo anormalidades no ácido gama-aminobutírico (GABA) e nos recetores da serotonina, novos estudos<sup>109,110,111,112</sup> têm vindo a produzir resultados interessantes, sugerindo a relevância do stress oxidativo no desenvolvimento deste espectro amplo de distúrbios. A associação entre o surgimento de patologias e o aumento dos níveis de stress

oxidativo e nitrosativo, despoletados pela produção de espécies reativas de oxigénio (ROS) e de nitrogénio (RNS), respetivamente, deve-se em grande parte à grande suscetibilidade do cérebro à carga oxidativa<sup>113</sup>. Significativamente, o stress oxidativo encontra-se descrito como um fator despoletador de inflamação crónica, que se caracteriza pela geração de mediadores pró-inflamatórios produzidos localmente por células residentes pertencentes ao sistema imunitário inato e que têm vindo a ser abordadas na presente dissertação. De fato, células do SNC locais, como os macrófagos da microglia e até leucócitos recrutados, expressam várias citocinas, complexos major de histocompatibilidade e moléculas de adesão e co estimulantes, que no seu conjunto levam à formação das ROS<sup>114,115,116</sup>. Quando a capacidade neutralizadora dos antioxidantes endógenos é excedida pela produção de ROS, estes passam a ser altamente tóxicos para o SNC<sup>114</sup>. É o balanço entre fatores pró e anti-inflamatórios que determina a intensidade e o curso da resposta inflamatória, incluindo os níveis de stress oxidativo e a consequente neurodegeneração<sup>118,119,120</sup>. Tem sido proposto que a neuroinflamação promove o stress oxidativo, contribuindo para disfunção neuronal irreversível e morte celular<sup>121,122,123</sup>. Dados sugerem que níveis aumentados de inflamação originam ROS e RNS em neurónios<sup>122,123</sup>. Para além disso, citocinas pró-inflamatórias como a IL-1beta, IL-6 e TNF-alfa, elicitam respostas imunitárias no SNC durante a inflamação<sup>115,124</sup>. Estas podem assumir um papel benéfico ou deletério, dependendo da sua concentração, local de atuação e duração de ação<sup>117,118,119</sup>. Consequentemente, a produção excessiva ou prolongada de citocinas, como se verificou em ratinhos geneticamente manipulados, pode levar à inflamação crónica e distúrbios funcionais do SNC<sup>125</sup>.

Novos dados sugerem que a indução direta de stress oxidativo em ratinhos machos Sprague-Dawley via dois indutores independentes de stress oxidativo, X+XO (xantina+xantina oxidase) e BSO (butionina sulfoximina), leva ao aumento IL-6 no soro e de TNF-alfa nos tecidos cerebrais dos ratinhos<sup>127</sup>. Curiosamente, estes ratinhos exibiram comportamentos relacionados com a ansiedade nos testes de transição claro/escuro, que são frequentemente empregados para avaliar os níveis de ansiedade em laboratório<sup>126</sup>. Comportamentos relacionados com a ansiedade encontraram-se relacionados não só com o estado de stress oxidativo no SNC, como também no sistema periférico dos ratinhos ansiosos<sup>127</sup>. Estudos conduzidos por Rammal, Bouayed, Younos e Soulimani (2008), evidenciaram um desequilíbrio no estado oxidativo tanto nos neurónios como nas células gliais do cerebelo e do hipocampo, assim como nos neurónios do córtex cerebral e nos leucócitos dos

ratinhos ansiosos, sugerindo assim o potencial papel do sistema redox no desenvolvimento de psicopatias, neuroinflamação e neurodegeneração<sup>126</sup>.

#### **4.2. Evidências da neuroimunologia da ansiedade**

Estudos experimentais animais revelaram que o aumento da expressão de citocinas periféricas se encontrava relacionado com aumento dos níveis de ansiedade em ratinhos<sup>129,130,131</sup>, verificando-se uma maior incidência do fenótipo anxiogénico naqueles que sobre expressavam IL-6 e TNF-alfa<sup>132</sup>. Verificou-se também que a deleção do gene que codifica o IFN-gama levava a um aumento dos níveis de ansiedade<sup>133,134</sup>.

Estudos humanos, por sua vez, evidenciam que um estado crónico de ansiedade apresenta efeitos deletérios na função imunitária<sup>135,136,137</sup>, levando a dano celular e respostas imunitárias humorais<sup>138,139,140</sup>, assim como aumento da incidência de infeções víricas e bacterianas<sup>139</sup>. A ansiedade também se demonstrou relacionada com uma inferior resposta imunitária a inúmeras vacinas antibacterianas e antivíricas, como a da hepatite B<sup>140</sup>, antipneumocócica<sup>141</sup>, contra o vírus da rubéola<sup>142</sup>, contra o vírus da meningite<sup>143</sup> e contra o vírus influenza<sup>144,145</sup>.

As associações entre reações inflamatórias e estados ansiosos também têm vindo a ser avaliadas em indivíduos fisicamente doentes com ativação conhecida das respostas inflamatórias. Tome-se o exemplo da associação evidenciada da relação entre os níveis de IFN-gama e ansiedade no LES<sup>146</sup>, ou também a evidência de rácios diminuídos de IFN-gama (células Th1) versus IL-4 (células Th2) em mulheres com cancro do ovário, tanto em estados ansiosos, como depressivos<sup>136</sup>.

Outro exemplo representativo é o da Esclerose Múltipla (MS), doença degenerativa que se caracteriza pela inflamação crónica do SNC<sup>147</sup> e na qual se evidenciou que a taxa de distúrbios afetivos como a depressão e ansiedade, era pelo menos 6 vezes superior<sup>147</sup>.

Outro estudo interessante foi aquele que registou a resposta comportamental à injeção com lipopolissacarídeo (LPS), um conhecido ativador do sistema imunitário. Neste, os indivíduos submetidos à injeção exibiram aumentos agudos dos sintomas de ansiedade<sup>148</sup>. O' Donovan e os seus colegas, por sua vez, evidenciaram que indivíduos clinicamente ansiosos exibiam níveis significativamente aumentados de IL-6 quando comparados com participantes sem evidência de ansiedade e que esse aumento era independentemente da presença de sintomas depressivos, indicando um efeito específico da ansiedade na atividade inflamatória e sinalizando a possibilidade

de a ansiedade aumentar o risco de doenças inflamatórias<sup>128</sup>.

Outra linha de evidência provém de estudos relacionados com o síndrome de fadiga crónica, que é caracterizado pela presença de stress crónico, fadiga, infeções, sintomas reumatológicos e neuropsiquiátricos e aumento do stress oxidativo e inflamação<sup>149</sup>. Estes estudos recorreram frequentemente a modelos animais, nos quais o uso de anti-inflamatórios inibidores das ciclogenases (COX; tanto seletivos, como não seletivos) em ratinhos com fadiga crónica induzida (ao força-los a nadar durante 15 dias) pareceu atenuar significativamente os comportamentos ansiosos e os níveis de mediadores inflamatórios<sup>150</sup>. Os inibidores COX demonstraram também efeitos protetores em situações de stress agudo relacionadas com comportamentos ansiosos e aumento do dano oxidativo<sup>150</sup>. De fato, o tratamento prévio com os inibidores das COX em ratinhos submetidos stress agudo por 6h de imobilização, pareceu diminuir significativamente os níveis de ansiedade e de stress oxidativo<sup>150,151</sup>.

Relativamente aos diferentes tipos de transtornos de ansiedade, a evidência neuroimunológica é mais escassa. Ainda assim, evidenciaram-se alterações nos níveis circulantes de IL-1 em doentes com transtorno do pânico (PD)<sup>152</sup>, assim como redução não só dos níveis de ansiedade, como da imunidade mediada por células através de terapêuticas ansiolíticas, como a terapia cognitivo-comportamental e o uso loflazepato de etilo<sup>153</sup>.

Por fim, em estudos relacionados com o distúrbio de ansiedade generalizada (GAD) em doentes com angina estável evidenciou-se uma associação significativa entre níveis de Proteína C-Reativa (PCR) e os sintomas de GAD<sup>154</sup>. Para além disso, dois estudos conduzidos com 20 indivíduos com GAD e 20 controlos, demonstraram desregulação funcional das células T nos indivíduos com GAD a partir da análise do perfil de células T após a ativação em culturas in vitro. O perfil de citocinas na GAD revelou que diferenças entre Th1 e Th2 se encontravam relacionadas com a dominância do fenótipo Th17, melhorado pela substância P<sup>155,156</sup>. A composição profundamente alterada do compartimento de células T periféricas poderá induzir a um estado de compromisso da resposta imunitária, o que pode explicar o porquê de alguns indivíduos ansiosos apresentarem suscetibilidade aumentada para infeções e doenças inflamatórias e autoimunes<sup>155,156</sup>. Ainda que interessante, a significância destes achados é incerta, em parte pelo tamanho reduzido das amostras.

## Conclusão

O conhecimento das interações entre o cérebro e o sistema imunitário tem vindo a proporcionar uma promessa considerável para a expansão do nosso entendimento acerca dos mecanismos que estão por trás da saúde e da doença e para os quais o papel das emoções e do stress tem vindo a ganhar um protagonismo crescente. Apesar da relevância clínica da relação bidirecional entre o SNC e o sistema imunitário ter vindo a ser um ponto de enorme interesse para a comunidade médica nas últimas décadas, a maioria dos estudos disponíveis neste âmbito debruçam-se sobre patologias de áreas médicas, como é o caso do cancro, da diabetes, das doenças cardiovasculares, entre outras.

O surgimento da PNI, inicialmente a partir da evidência de que a exposição ao stress poderia levar a alterações comportamentais com significado clínico, como foi evidenciado por Seyle, veio a sobressaltar a ideia de que as doenças físicas e mentais se encontravam estritamente relacionadas. A crescente atenção que tem vindo a ser dada aos distúrbios psiquiátricos, seja pela sua enorme prevalência, pelos elevados custos que acarretam e especialmente pelo seu prejuízo na saúde global, tem então atribuído à PNI um papel para além de fundamental.

Ainda que a maioria dos estudos se debruce sobre o papel da depressão, uma maior atenção tem vindo a ser atribuída aos distúrbios de ansiedade, que apesar da sua elevadíssima prevalência nas sociedades ocidentais e do seu inegável impacte na saúde, permanecem mal compreendidos.

O estudo dos mecanismos bidirecionais através dos quais o sistema imunitário influencia o comportamento e funções cerebrais, poderá ajudar-nos então a compreender os mecanismos segundo os quais este espectro de distúrbios se desenvolve, permitindo-nos consequentemente encontrar potenciais alvos terapêuticos e estratégias preventivas.

A literatura disponível acerca da PNI tornou-se tão vasta, que seria irreal abordá-la na totalidade ao longo desta breve dissertação. Durante o trabalho, procurei então expor as bases históricas e científicas da PNI, a meu ver essenciais para a sua compreensão, tendo posteriormente abordado os temas e áreas que me pareceram mais promissores, e dos quais destaco o papel das citocinas, da microglia e do stress oxidativo na possível génese de psicopatias, como é o caso dos transtornos de ansiedade. Apesar de todos os esforços, para além da evidência destas inter-relações, são ainda necessários estudos que permitam uma visão mais crítica das implicações da PNI neste espectro de doenças e na própria saúde física e mental do homem.



## Bibliografia

1. Ader R, Cohen N, Felten D. Psychoneuroimmunology: interactions between the nervous system and the immune system. *Lancet*. 1995;345(8942):99-103.
2. Leonard BE, Myint AM. Immune dysfunction, depression and neurodegeneration. *Acta Neuropsychiatr*. 2009;21 Suppl 2:45-6.
3. Raison CL, Capuron L, Miller AH. Cytokines sing the blues: inflammation and the pathogenesis of depression. *Trends Immunol*. 2006;27(1):24-31.
4. Miller AH. Norman Cousins Lecture. Mechanisms of cytokine-induced behavioral changes: psychoneuroimmunology at the translational interface. *Brain Behav Immun*. 2009;23(2):149-58.
5. Zachariae R, Oster H, Bjerring P, Kragballe K. Effects of psychologic intervention on psoriasis: a preliminary report. *J Am Acad Dermatol*. 1996;34(6):1008-15.
6. Haddad JJ. On the mechanisms and putative pathways involving neuroimmune interactions. *Biochem Biophys Res Commun*. 2008;370(4):531-5.
7. Salim S, Chugh G, Asghar M. Inflammation in anxiety. *Adv Protein Chem Struct Biol*. 2012;88:1-25.
8. Altemus M, Rao B, Dhabhar FS, Ding W, Granstein RD. Stress-induced changes in skin barrier function in healthy women. *J Invest Dermatol*. 2001;117(2):309-17.
9. Capuron L, Miller AH. Immune system to brain signaling: neuropsychopharmacological implications. *Pharmacol Ther*. 2011;130(2):226-38.
10. Desmond DW, Remien RH, Moroney JT, Stern Y, Sano M, Williams JB. Ischemic stroke and depression. *J Int Neuropsychol Soc*. 2003;9(3):429-39.
11. Maddock C, Pariante CM. How does stress affect you? An overview of stress, immunity, depression and disease. *Epidemiol Psichiatr Soc*. 2001;10(3):153-62.
12. Pariante CM, Miller AH. Glucocorticoid receptors in major depression: relevance to pathophysiology and treatment. *Biol Psychiatry*. 2001;49(5):391-404.
13. Pace TW, Negi LT, Sivilli TI, Issa MJ, Cole SP, Adame DD, et al. Innate immune, neuroendocrine and behavioral responses to psychosocial stress do not predict subsequent compassion meditation practice time. *Psychoneuroendocrinology*. 2010;35(2):310-5.
14. Brydon L, Walker C, Wawrzyniak A, Whitehead D, Okamura H, Yajima J, et al. Synergistic effects of psychological and immune stressors on inflammatory cytokine and sickness responses in humans. *Brain Behav Immun*. 2009;23(2):217-24.
15. Brydon L, Wright CE, O'Donnell K, Zachary I, Wardle J, Steptoe A. Stress-induced cytokine responses and central adiposity in young women. *Int J Obes (Lond)*. 2008;32(3):443-50.

17. Brydon L, Walker C, Wawrzyniak A, Whitehead D, Okamura H, Yajima J, et al. Synergistic effects of psychological and immune stressors on inflammatory cytokine and sickness responses in humans. *Brain Behav Immun*. 2009;23(2):217-24.
18. Capuron L, Miller AH. Immune system to brain signaling: neuropsychopharmacological implications. *Pharmacol Ther*. 2011;130(2):226-38.
19. Capuron L, Schroecksnadel S, Feart C, Aubert A, Higuieret D, Barberger-Gateau P, et al. Chronic low-grade inflammation in elderly persons is associated with altered tryptophan and tyrosine metabolism: role in neuropsychiatric symptoms. *Biol Psychiatry*. 2011;70(2):175-82.
20. Ransohoff RM, Perry VH. Microglial physiology: unique stimuli, specialized responses. *Annu Rev Immunol*. 2009;27:119-45.
21. Rezai-Zadeh K, Gate D, Town T. CNS infiltration of peripheral immune cells: D-Day for neurodegenerative disease? *J Neuroimmune Pharmacol*. 2009;4(4):462-75.
22. Singh MD, King V, Baldwin H, Burden D, Thorrat A, Holmes S, et al. Elevated expression of the chemokine-scavenging receptor D6 is associated with impaired lesion development in psoriasis. *Am J Pathol*. 2012;181(4):1158-64.
23. Hou R, Baldwin DS. A neuroimmunological perspective on anxiety disorders. *Hum Psychopharmacol*. 2012;27(1):6-14.
24. Luger A, Deuster PA, Debolt JE, Loriaux DL, Chrousos GP. Acute exercise stimulates the renin-angiotensin-aldosterone axis: adaptive changes in runners. *Horm Res*. 1988;30(1):5-9.
25. Gold PW, Kling MA, Whitfield HJ, Rabin D, Margioris A, Kalogeras K, et al. The clinical implications of corticotropin-releasing hormone. *Adv Exp Med Biol*. 1988;245:507-19.
26. Cannon WB. Pharmacological Injections and Physiological Inferences. *Science*. 1929;70(1821):500-1.
27. H FS. Effect of Cystine Disulfoxide on Spontaneous Tumors of the Mouse. *Science*. 1936;83(2144):108-9.
28. Harris GW. Hypothalamo-hypophysial connexions in the Cetacea. *J Physiol*. 1950;111(3-4):361-7.
29. De Groot J, Harris GW. Hypothalamic control of the anterior pituitary gland and blood lymphocytes. *J Physiol*. 1950;111(3-4):335-46.
30. Colfer HF, De Groot J, Harris GW. Pituitary gland and blood lymphocytes. *J Physiol*. 1950;111(3-4):328-34.
31. Guillemin R, Rosenberg B. Humoral hypothalamic control of anterior pituitary: a study with combined tissue cultures. *Endocrinology*. 1955;57(5):599-607.
32. Guillemin R, Hearn WR. ACTH release by in vitro pituitary; effect of pitressin and purified arginine-vasopressin. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1955;89(3):365-7.

33. Saffran M, Schally AV, Benfey BG. Stimulation of the release of corticotropin from the adenohypophysis by a neurohypophysial factor. *Endocrinology*. 1955;57(4):439-44.
34. Saffran M, Schally AV. The release of corticotrophin by anterior pituitary tissue in vitro. *Can J Biochem Physiol*. 1955;33(3):408-15.
35. Chrousos GP, Gold PW. The concepts of stress and stress system disorders. Overview of physical and behavioral homeostasis. *JAMA*. 1992;267(9):1244-52.
36. Sternberg EM, Glowa JR, Smith MA, Calogero AE, Listwak SJ, Aksentijevich S, et al. Corticotropin releasing hormone related behavioral and neuroendocrine responses to stress in Lewis and Fischer rats. *Brain Res*. 1992;570(1-2):54-60.
37. Gold PW, Goodwin FK, Chrousos GP. Clinical and biochemical manifestations of depression. Relation to the neurobiology of stress (1). *N Engl J Med*. 1988;319(6):348-53.
38. Roth RH, Tam SY, Ida Y, Yang JX, Deutch AY. Stress and the mesocorticolimbic dopamine systems. *Ann N Y Acad Sci*. 1988;537:138-47.
39. Nikolarakis KE, Almeida OF, Herz A. Stimulation of hypothalamic beta-endorphin and dynorphin release by corticotropin-releasing factor (in vitro). *Brain Res*. 1986;399(1):152-5.
40. Almeida OF, Nikolarakis KE, Herz A. Regulation of hypothalamic beta-endorphin and dynorphin release by corticotropin-releasing factor (CRF). *NIDA Res Monogr*. 1986;75:401-2.
41. Spiess J, Rivier J, Rivier C, Vale W. Primary structure of corticotropin-releasing factor from ovine hypothalamus. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1981;78(10):6517-21.
42. Rivier C, Vale W. Temporal relationship between the abortifacient effects of GnRH antagonists and hormonal secretion. *Biol Reprod*. 1981;24(5):1061-7.
43. Engler D, Pham T, Fullerton MJ, Ooi G, Funder JW, Clarke IJ. Studies of the secretion of corticotropin-releasing factor and arginine vasopressin into the hypothalamic-portal circulation of the conscious sheep. I. Effect of an audiovisual stimulus and insulin-induced hypoglycemia. *Neuroendocrinology*. 1989;49(4):367-81.
44. Horrocks PM, Jones AF, Ratcliffe WA, Holder G, White A, Holder R, et al. Patterns of ACTH and cortisol pulsatility over twenty-four hours in normal males and females. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1990;32(1):127-34.
45. Horrocks PM, Jones AF, Ratcliffe WA, Holder G, White A, Holder R, et al. Patterns of ACTH and cortisol pulsatility over twenty-four hours in normal males and females. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1990;32(1):127-34.
46. Tsigos C, Chrousos GP. Physiology of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in health and dysregulation in psychiatric and autoimmune disorders. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 1994;23(3):451-66.

47. Tsigos C, Chrousos GP. Physiology of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in health and dysregulation in psychiatric and autoimmune disorders. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 1994;23(3):451-66.
48. Holmes MC, Antoni FA, Catt KJ, Aguilera G. Predominant release of vasopressin vs. corticotropin-releasing factor from the isolated median eminence after adrenalectomy. *Neuroendocrinology.* 1986;43(2):245-51.
49. Ledingham JG, Crowe MJ, Forsling ML, Phillips PA, Rolls BJ. Effects of aging on vasopressin secretion, water excretion, and thirst in man. *Kidney Int Suppl.* 1987;21:S90-2.
50. Hinson JP. Paracrine control of adrenocortical function: a new role for the medulla? *J Endocrinol.* 1990;124(1):7-9.
51. van Eekelen JA, Rots NY, Sutanto W, Oitzl MS, de Kloet ER. Brain corticosteroid receptor gene expression and neuroendocrine dynamics during aging. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1991;40(4-6):679-83.
52. Smith DF, Toft DO. Steroid receptors and their associated proteins. *Mol Endocrinol.* 1993;7(1):4-11.
53. Elenkov IJ, Webster EL, Torpy DJ, Chrousos GP. Stress, corticotropin-releasing hormone, glucocorticoids, and the immune/inflammatory response: acute and chronic effects. *Ann N Y Acad Sci.* 1999;876:1-11; discussion -3.
54. Gold PW, Goodwin FK, Chrousos GP. Clinical and biochemical manifestations of depression. Relation to the neurobiology of stress (1). *N Engl J Med.* 1988;319(6):348-53.
55. Gerrity TR, Bates J, Bell DS, Chrousos G, Furst G, Hedrick T, et al. Chronic fatigue syndrome: what role does the autonomic nervous system play in the pathophysiology of this complex illness? *Neuroimmunomodulation.* 2002;10(3):134-41.
56. Elenkov IJ, Chrousos GP. Stress hormones, proinflammatory and antiinflammatory cytokines, and autoimmunity. *Ann N Y Acad Sci.* 2002;966:290-303.
57. Elenkov IJ, Chrousos GP. Stress hormones, proinflammatory and antiinflammatory cytokines, and autoimmunity. *Ann N Y Acad Sci.* 2002;966:290-303.
58. Casanueva FF, Burguera B, Muruais C, Dieguez C. Acute administration of corticoids: a new and peculiar stimulus of growth hormone secretion in man. *J Clin Endocrinol Metab.* 1990;70(1):234-7.
59. Rasmussen AF, Jr., Marsh JT, Brill NQ. Increased susceptibility to herpes simplex in mice subjected to avoidance-learning stress or restraint. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1957;96(1):183-9.
60. Fessel WJ, Solomon GF. Psychosis and systemic lupus erythematosus: a review of the literature and case reports. *Calif Med.* 1960;92:266-70.
61. Amkraut AA. Determination of Antibody-Hapten Binding Constant by Fluorescence Enhancement. *Immunochemistry.* 1964;1:231-5.

62. Ader R. Animal models in the study of brain, behavior and bodily disease. *Res Publ Assoc Res Nerv Ment Dis*. 1981;59:11-26.
63. Ader R, Cohen N, Felten DL. Brain, behavior, and immunity. *Brain Behav Immun*. 1987;1(1):1-6.
64. Chaplin DD. 1. Overview of the human immune response. *J Allergy Clin Immunol*. 2006;117(2 Suppl Mini-Primer):S430-5.
65. Kollmann TR, Levy O, Montgomery RR, Goriely S. Innate immune function by Toll-like receptors: distinct responses in newborns and the elderly. *Immunity*. 2012;37(5):771-83.
66. Miossec P, Korn T, Kuchroo VK. Interleukin-17 and type 17 helper T cells. *N Engl J Med*. 2009;361(9):888-98.
67. M'Bailara K, Chevrier F, Dutertre T, Demotes-Mainard J, Swendsen J, Henry C. [Emotional reactivity in euthymic bipolar patients]. *Encephale*. 2009;35(5):484-90.
68. Smolen KK, Gelinas L, Franzen L, Dobson S, Dawar M, Ogilvie G, et al. Age of recipient and number of doses differentially impact human B and T cell immune memory responses to HPV vaccination. *Vaccine*. 2012;30(24):3572-9.
69. PrabhuDas M, Adkins B, Gans H, King C, Levy O, Ramilo O, et al. Challenges in infant immunity: implications for responses to infection and vaccines. *Nat Immunol*. 2011;12(3):189-94.
70. Wieck A, Grassi-Oliveira R, do Prado CH, Rizzo LB, de Oliveira AS, Kommers-Molina J, et al. Differential neuroendocrine and immune responses to acute psychosocial stress in women with type 1 bipolar disorder. *Brain Behav Immun*. 2013;34:47-55.
71. Pedersen AF, Zachariae R. Cancer, acute stress disorder, and repressive coping. *Scand J Psychol*. 2010;51(1):84-91.
72. Ader R, Cohen N. Behaviorally conditioned immunosuppression. *Psychosom Med*. 1975;37(4):333-40.
73. Madden KS, Felten SY, Felten DL, Sundaresan PR, Livnat S. Sympathetic neural modulation of the immune system. I. Depression of T cell immunity in vivo and vitro following chemical sympathectomy. *Brain Behav Immun*. 1989;3(1):72-89.
74. Wira C, Munck A. Specific glucocorticoid receptors in thymus cells. Localization in the nucleus and extraction of the cortisol-receptor complex. *J Biol Chem*. 1970;245(13):3436-8.
75. Fuchs BA, Albright JW, Albright JF. Beta-adrenergic receptors on murine lymphocytes: density varies with cell maturity and lymphocyte subtype and is decreased after antigen administration. *Cell Immunol*. 1988;114(2):231-45.
76. Kelley KW, Arkins S, Li YM. Growth hormone, prolactin, and insulin-like growth factors: new jobs for old players. *Brain Behav Immun*. 1992;6(4):317-26.

77. Berghaus LJ, Moore JN, Hurley DJ, Vandenplas ML, Fortes BP, Wolfert MA, et al. Innate immune responses of primary murine macrophage-lineage cells and RAW 264.7 cells to ligands of Toll-like receptors 2, 3, and 4. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2010;33(5):443-54.
78. Shigemori T, Sakai A, Takumi T, Itoh Y, Suzuki H. Altered Microglia in the Amygdala Are Involved in Anxiety-related Behaviors of a Copy Number Variation Mouse Model of Autism. *J Nippon Med Sch.* 2015;82(2):92-9.
79. Paolicelli RC, Gross CT. Microglia in development: linking brain wiring to brain environment. *Neuron Glia Biol.* 2011;7(1):77-83.
80. Glass CK, Saijo K, Winner B, Marchetto MC, Gage FH. Mechanisms underlying inflammation in neurodegeneration. *Cell.* 2010;140(6):918-34.
81. Bai F, Town T, Qian F, Wang P, Kamanaka M, Connolly TM, et al. IL-10 signaling blockade controls murine West Nile virus infection. *PLoS Pathog.* 2009;5(10):e1000610.
82. Wise AK, Richardson R, Hardman J, Clark G, O'Leary S. Resprouting and survival of guinea pig cochlear neurons in response to the administration of the neurotrophins brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3. *J Comp Neurol.* 2005;487(2):147-65.
83. Cunningham CL, Martinez-Cerdeno V, Noctor SC. Diversity of neural precursor cell types in the prenatal macaque cerebral cortex exists largely within the astroglial cell lineage. *PLoS One.* 2013;8(5):e63848.
84. Beumer W, Gibney SM, Drexhage RC, Pont-Lezica L, Doorduyn J, Klein HC, et al. The immune theory of psychiatric diseases: a key role for activated microglia and circulating monocytes. *J Leukoc Biol.* 2012;92(5):959-75.
85. Williamson LL, Bilbo SD. Chemokines and the hippocampus: a new perspective on hippocampal plasticity and vulnerability. *Brain Behav Immun.* 2013;30:186-94.
86. Suzuki Y. [In-vivo analysis for human brain maturation using MRI]. *Rinsho Shinkeigaku.* 2013;53(11):1100-3.
87. Yirmiya R, Goshen I. Immune modulation of learning, memory, neural plasticity and neurogenesis. *Brain Behav Immun.* 2011;25(2):181-213.
88. Rettori V. Neuroimmune interactions. *Exp Physiol.* 2007;92(5):799-800.
89. Wheeler RD, Brough D, Le Feuvre RA, Takeda K, Iwakura Y, Luheshi GN, et al. Interleukin-18 induces expression and release of cytokines from murine glial cells: interactions with interleukin-1 beta. *J Neurochem.* 2003;85(6):1412-20.
90. Kronfol Z, Remick DG. Cytokines and the brain: implications for clinical psychiatry. *Am J Psychiatry.* 2000;157(5):683-94.
91. Milligan ED, Twining C, Chacur M, Biedenkapp J, O'Connor K, Poole S, et al. Spinal glia and proinflammatory cytokines mediate mirror-image neuropathic pain in rats. *J Neurosci.* 2003;23(3):1026-40.

92. Miller AH, Ancoli-Israel S, Bower JE, Capuron L, Irwin MR. Neuroendocrine-immune mechanisms of behavioral comorbidities in patients with cancer. *J Clin Oncol*. 2008;26(6):971-82.
93. Capuron L, Miller AH. Immune system to brain signaling: neuropsychopharmacological implications. *Pharmacol Ther*. 2011;130(2):226-38.
94. Banks WA, Kastin AJ, Broadwell RD. Passage of cytokines across the blood-brain barrier. *Neuroimmunomodulation*. 1995;2(4):241-8.
95. Loftis JM, Huckans M, Morasco BJ. Neuroimmune mechanisms of cytokine-induced depression: current theories and novel treatment strategies. *Neurobiol Dis*. 2010;37(3):519-33.
96. Pariante CM, Miller AH. Glucocorticoid receptors in major depression: relevance to pathophysiology and treatment. *Biol Psychiatry*. 2001;49(5):391-404.
97. Brydon L, Harrison NA, Walker C, Steptoe A, Critchley HD. Peripheral inflammation is associated with altered substantia nigra activity and psychomotor slowing in humans. *Biol Psychiatry*. 2008;63(11):1022-9.
98. Besedovsky HO, del Rey A. Immune-neuro-endocrine interactions: facts and hypotheses. *Endocr Rev*. 1996;17(1):64-102.
99. Elenkov IJ, Wilder RL, Chrousos GP, Vizi ES. The sympathetic nerve--an integrative interface between two supersystems: the brain and the immune system. *Pharmacol Rev*. 2000;52(4):595-638.
100. Wright JW, Reichert JR, Davis CJ, Harding JW. Neural plasticity and the brain renin-angiotensin system. *Neurosci Biobehav Rev*. 2002;26(5):529-52.
101. Lucas SM, Rothwell NJ, Gibson RM. The role of inflammation in CNS injury and disease. *Br J Pharmacol*. 2006;147 Suppl 1:S232-40.
102. Ottaviani E, Malagoli D, Franceschi C. Common evolutionary origin of the immune and neuroendocrine systems: from morphological and functional evidence to in silico approaches. *Trends Immunol*. 2007;28(11):497-502.
103. McElhaney JE, Effros RB. Immunosenescence: what does it mean to health outcomes in older adults? *Curr Opin Immunol*. 2009;21(4):418-24.
104. Pawelec G, Larbi A, Derhovanessian E. Senescence of the human immune system. *J Comp Pathol*. 2010;142 Suppl 1:S39-44.
105. Bandelow B, Michaelis S. Epidemiology of anxiety disorders in the 21st century. *Dialogues Clin Neurosci*. 2015;17(3):327-35.
106. Raha S, Robinson BH. Mitochondria, oxygen free radicals, and apoptosis. *Am J Med Genet*. 2001;106(1):62-70.
107. Greco T, Fiskum G. Neuroprotection through stimulation of mitochondrial anti-oxidant protein expression. *J Alzheimers Dis*. 2010;20 Suppl 2:S427-37.

108. Lassmann H, Bruck W, Lucchinetti C. Heterogeneity of multiple sclerosis pathogenesis: implications for diagnosis and therapy. *Trends Mol Med*. 2001;7(3):115-21.
109. Rammal H, Bouayed J, Falla J, Boujedaini N, Soulimani R. The impact of high anxiety level on cellular and humoral immunity in mice. *Neuroimmunomodulation*. 2010;17(1):1-8.
110. Bouayed J, Rammal H, Younos C, Soulimani R. Positive correlation between peripheral blood granulocyte oxidative status and level of anxiety in mice. *Eur J Pharmacol*. 2007;564(1-3):146-9.
111. Hovatta I, Tennant RS, Helton R, Marr RA, Singer O, Redwine JM, et al. Glyoxalase 1 and glutathione reductase 1 regulate anxiety in mice. *Nature*. 2005;438(7068):662-6.
112. Masood A, Nadeem A, Mustafa SJ, O'Donnell JM. Reversal of oxidative stress-induced anxiety by inhibition of phosphodiesterase-2 in mice. *J Pharmacol Exp Ther*. 2008;326(2):369-79.
113. Ng F, Berk M, Dean O, Bush AI. Oxidative stress in psychiatric disorders: evidence base and therapeutic implications. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2008;11(6):851-76.
114. Floyd RA. Antioxidants, oxidative stress, and degenerative neurological disorders. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1999;222(3):236-45.
115. Hopkins SJ, Rothwell NJ. Cytokines and the nervous system. I: Expression and recognition. *Trends Neurosci*. 1995;18(2):83-8.
116. Martiney JA, Cuff C, Litwak M, Berman J, Brosnan CF. Cytokine-induced inflammation in the central nervous system revisited. *Neurochem Res*. 1998;23(3):349-59.
117. Merrill JE, Benveniste EN. Cytokines in inflammatory brain lesions: helpful and harmful. *Trends Neurosci*. 1996;19(8):331-8.
118. Bethea JR. Spinal cord injury-induced inflammation: a dual-edged sword. *Prog Brain Res*. 2000;128:33-42.
119. Sternberg EM. Neural-immune interactions in health and disease. *J Clin Invest*. 1997;100(11):2641-7.
120. Jander S, Schroeter M, Fischer J, Stoll G. Differential regulation of microglial keratan sulfate immunoreactivity by proinflammatory cytokines and colony-stimulating factors. *Glia*. 2000;30(4):401-10.
121. Maccioni RB, Rojo LE, Fernandez JA, Kuljis RO. The role of neuroimmunomodulation in Alzheimer's disease. *Ann N Y Acad Sci*. 2009;1153:240-6.
122. Mhatre M, Floyd RA, Hensley K. Oxidative stress and neuroinflammation in Alzheimer's disease and amyotrophic lateral sclerosis: common links and potential therapeutic targets. *J Alzheimers Dis*. 2004;6(2):147-57.



123. Apelt J, Bigl M, Wunderlich P, Schliebs R. Aging-related increase in oxidative stress correlates with developmental pattern of beta-secretase activity and beta-amyloid plaque formation in transgenic Tg2576 mice with Alzheimer-like pathology. *Int J Dev Neurosci.* 2004;22(7):475-84.
124. Martiney JA, Cuff C, Litwak M, Berman J, Brosnan CF. Cytokine-induced inflammation in the central nervous system revisited. *Neurochem Res.* 1998;23(3):349-59.
125. Probert L, Akassoglou K, Pasparakis M, Kontogeorgos G, Kollias G. Spontaneous inflammatory demyelinating disease in transgenic mice showing central nervous system-specific expression of tumor necrosis factor alpha. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995;92(24):11294-8.
126. Salim S, Asghar M, Taneja M, Hovatta I, Chugh G, Vollert C, et al. Potential contribution of oxidative stress and inflammation to anxiety and hypertension. *Brain Res.* 2011;1404:63-71.
127. Salim S, Asghar M, Chugh G, Taneja M, Xia Z, Saha K. Oxidative stress: a potential recipe for anxiety, hypertension and insulin resistance. *Brain Res.* 2010;1359:178-85.
128. O'Donovan A, Hughes BM, Slavich GM, Lynch L, Cronin MT, O'Farrelly C, et al. Clinical anxiety, cortisol and interleukin-6: evidence for specificity in emotion-biology relationships. *Brain Behav Immun.* 2010;24(7):1074-7.
129. Schrott LM, Crnic LS. Increased anxiety behaviors in autoimmune mice. *Behav Neurosci.* 1996;110(3):492-502.
130. Bluthé RM, Sparber S, Dantzer R. Modulation of the behavioural effects of interleukin-1 in mice by nitric oxide. *Neuroreport.* 1992;3(2):207-9.
131. Sakic B, Szechtman H, Talangbayan H, Denburg S, Carbotte R, Denburg JA. Behavior and immune status of MRL mice in the postweaning period. *Brain Behav Immun.* 1994;8(1):1-13.
132. Connor TJ, Song C, Leonard BE, Merali Z, Anisman H. An assessment of the effects of central interleukin-1beta, -2, -6, and tumor necrosis factor-alpha administration on some behavioural, neurochemical, endocrine and immune parameters in the rat. *Neuroscience.* 1998;84(3):923-33.
133. Belladonna ML, Grohmann U, Bianchi R, Ayroldi E, Surace D, Puccetti P, et al. The role of IL-12 in the induction of an immune response to a tumor/self peptide: prevention and reversion of anergy. *J Chemother.* 1998;10(2):157-9.
134. Kustova Y, Sei Y, Morse HC, Jr., Basile AS. The influence of a targeted deletion of the IFN-gamma gene on emotional behaviors. *Brain Behav Immun.* 1998;12(4):308-24.
135. Boscarino JA. Posttraumatic stress disorder and physical illness: results from clinical and epidemiologic studies. *Ann N Y Acad Sci.* 2004;1032:141-53.

136. Hurwitz BE, Brownley KA, Motivala SJ, Milanovich JR, Kibler JL, Fillion L, et al. Sympathoimmune anomalies underlying the response to stressful challenge in human immunodeficiency virus spectrum disease. *Psychosom Med*. 2005;67(5):798-806.
137. Godbout JP, Glaser R. Stress-induced immune dysregulation: implications for wound healing, infectious disease and cancer. *J Neuroimmune Pharmacol*. 2006;1(4):421-7.
138. Arranz L, Guayerbas N, De la Fuente M. Impairment of several immune functions in anxious women. *J Psychosom Res*. 2007;62(1):1-8.
139. Koh YI, Choi IS, Lee JJ. Effects of cytokine milieu secreted by BCG-treated dendritic cells on allergen-specific Th immune response. *J Korean Med Sci*. 2004;19(5):640-6.
140. Jabaaij L, van Hattum J, Vingerhoets JJ, Oostveen FG, Duivenvoorden HJ, Balleux RE. Modulation of immune response to rDNA hepatitis B vaccination by psychological stress. *J Psychosom Res*. 1996;41(2):129-37.
141. Glaser R, Sheridan J, Malarkey WB, MacCallum RC, Kiecolt-Glaser JK. Chronic stress modulates the immune response to a pneumococcal pneumonia vaccine. *Psychosom Med*. 2000;62(6):804-7.
142. Morag M, Morag A, Reichenberg A, Lerer B, Yirmiya R. Psychological variables as predictors of rubella antibody titers and fatigue--a prospective, double blind study. *J Psychiatr Res*. 1999;33(5):389-95.
143. Burns VE, Drayson M, Ring C, Carroll D. Perceived stress and psychological well-being are associated with antibody status after meningitis C conjugate vaccination. *Psychosom Med*. 2002;64(6):963-70.
144. Vedhara K, Cox NK, Wilcock GK, Perks P, Hunt M, Anderson S, et al. Chronic stress in elderly carers of dementia patients and antibody response to influenza vaccination. *Lancet*. 1999;353(9153):627-31.
145. Miller GE, Cohen S, Pressman S, Barkin A, Rabin BS, Treanor JJ. Psychological stress and antibody response to influenza vaccination: when is the critical period for stress, and how does it get inside the body? *Psychosom Med*. 2004;66(2):215-23.
146. Figueiredo-Braga M, Mota-Garcia F, O'Connor JE, Garcia JR, Mota-Cardoso R, Cardoso CS, et al. Cytokines and anxiety in systemic lupus erythematosus (SLE) patients not receiving antidepressant medication: a little-explored frontier and some of its brief history. *Ann N Y Acad Sci*. 2009;1173:286-91.
147. Compston A, Coles A. Multiple sclerosis. *Lancet*. 2008;372(9648):1502-17.
148. Reichenberg A, Yirmiya R, Schuld A, Kraus T, Haack M, Morag A, et al. Cytokine-associated emotional and cognitive disturbances in humans. *Arch Gen Psychiatry*. 2001;58(5):445-52.
149. Chambers D, Bagnall AM, Hempel S, Forbes C. Interventions for the treatment, management and rehabilitation of patients with chronic fatigue syndrome/myalgic encephalomyelitis: an updated systematic review. *J R Soc Med*. 2006;99(10):506-20.

150. Chakraborti AK, Garg SK, Kumar R, Motiwala HF, Jadhavar PS. Progress in COX-2 inhibitors: a journey so far. *Curr Med Chem*. 2010;17(15):1563-93.
151. Gupta A, Dhir A, Kumar A, Kulkarni SK. Effect of preferential cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitor against 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)-induced striatal lesions in rats: behavioral, biochemical and histological evidences. *Indian J Exp Biol*. 2010;48(6):577-85.
152. Brambilla F, Bellodi L, Perna G, Bertani A, Panerai A, Sacerdote P. Plasma interleukin-1 beta concentrations in panic disorder. *Psychiatry Res*. 1994;54(2):135-42.
153. Koh KB, Lee Y. Reduced anxiety level by therapeutic interventions and cell-mediated immunity in panic disorder patients. *Psychother Psychosom*. 2004;73(5):286-92.
154. Bankier B, Barajas J, Martinez-Rumayor A, Januzzi JL. Association between C-reactive protein and generalized anxiety disorder in stable coronary heart disease patients. *Eur Heart J*. 2008;29(18):2212-7.
155. Vieira MM, Ferreira TB, Pacheco PA, Barros PO, Almeida CR, Araujo-Lima CF, et al. Enhanced Th17 phenotype in individuals with generalized anxiety disorder. *J Neuroimmunol*. 2010;229(1-2):212-8.
156. Barros PO, Ferreira TB, Vieira MM, Almeida CR, Araujo-Lima CF, Silva-Filho RG, et al. Substance P enhances Th17 phenotype in individuals with generalized anxiety disorder: an event resistant to glucocorticoid inhibition. *J Clin Immunol*. 2011;31(1):51-9.
157. Craske MG, Stein MB, Eley TC, Milad MR, Holmes A, Rapee RM, et al. Anxiety disorders. *Nat Rev Dis Primers*. 2017;3:17024.
158. Bentley MA, Crawford JM, Wilkins JR, Fernandez AR, Studnek JR. An assessment of depression, anxiety, and stress among nationally certified EMS professionals. *Prehosp Emerg Care*. 2013;17(3):330-8.
159. Kessler RC, Ruscio AM, Shear K, Wittchen HU. Epidemiology of anxiety disorders. *Curr Top Behav Neurosci*. 2010;2:21-35.
160. American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-5®* 5th edn (APA Publishing, 2013).
161. Castaneda AE, Tuulio-Henriksson A, Marttunen M, Suvisaari J, Lonnqvist J. A review on cognitive impairments in depressive and anxiety disorders with a focus on young adults. *J Affect Disord*. 2008;106(1-2):1-27.

## Anexo 1:

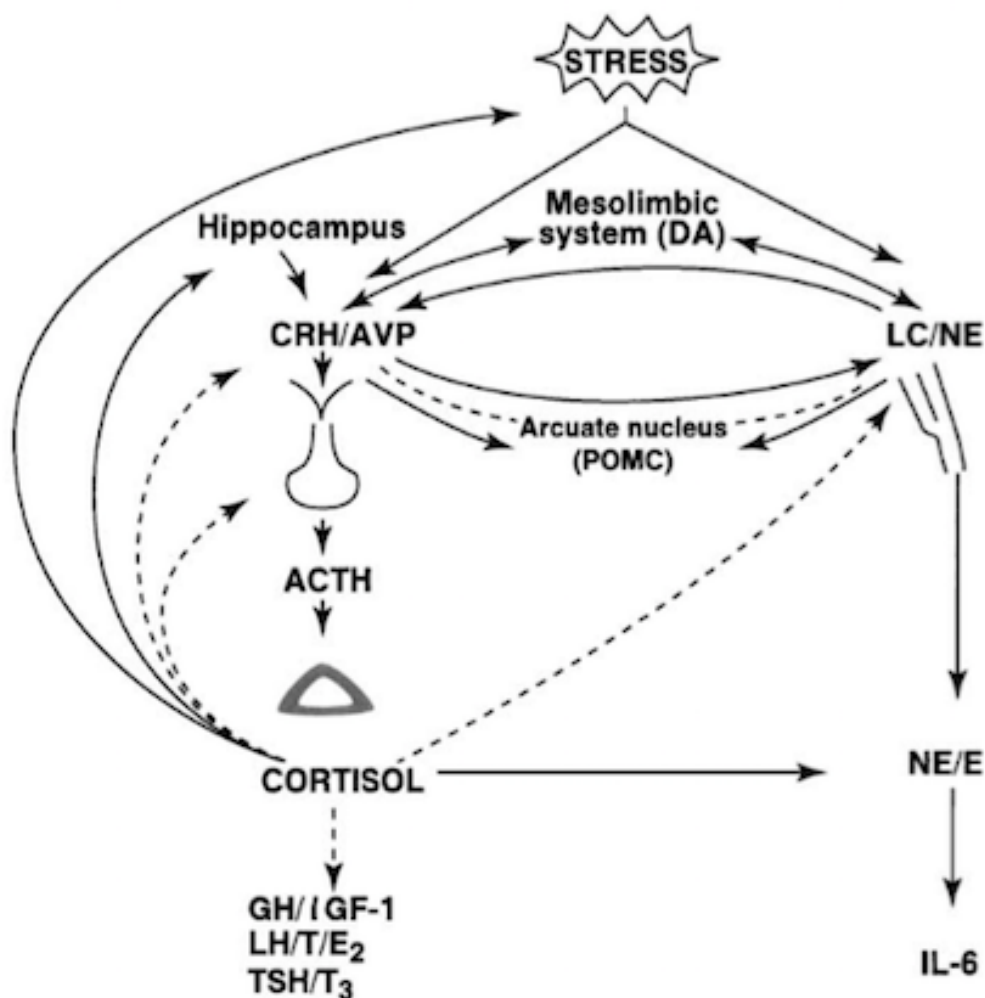


Figura 1: Representação esquemática simplificada dos componentes centrais e periféricos do Sistema do stress, das suas inter-relações funcionais e das suas relações com outros sistemas centrais envolvidos na resposta ao stress. Os neurónios CRH/AVP e os neurónios catecolaminérgicos inervam-se e ativam-se reciprocamente. O eixo HPA é controlado por vários mecanismos de feedback que tendem a normalizar a secreção integrada do cortisol, pelo que os glicocorticóides estimulam os centros do medo na amígdala. A ativação do eixo HPA leva à supressão do eixo das hormonas: hormona do crescimento (GH), hormona luteinizante (LH), testosterona, hormona estimuladora da tiroide (TSH); A ativação do SNS aumenta a secreção de IL-6. As linhas sólidas indicam estimulação; as linhas tracejadas indicam inibição. (Adaptado de Chrousos e Gold [35]).